# Über den
# Zustand und die Rolle der Gerbstoffe in der Pflanze

---

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung der Doktorwürde

der mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung
der philosophischen Fakultät der

**Universität Basel**

vorgelegt von

**Hanna Huber**
von Basel und Schaffhausen

Mit 3 Textfiguren

---

**Leipzig**
Verlag von Gebrüder Borntraeger
1929

# Über den
# Zustand und die Rolle der Gerbstoffe in der Pflanze

---

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung der Doktorwürde

der mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung
der philosophischen Fakultät der

**Universität Basel**

vorgelegt von

**Hanna Huber**
von Basel und Schaffhausen

Mit 3 Textfiguren

---

**Leipzig**
Verlag von Gebrüder Borntraeger
1929

Genehmigt von der mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung der philosophischen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. G. Senn und Dr. K. Spiro.

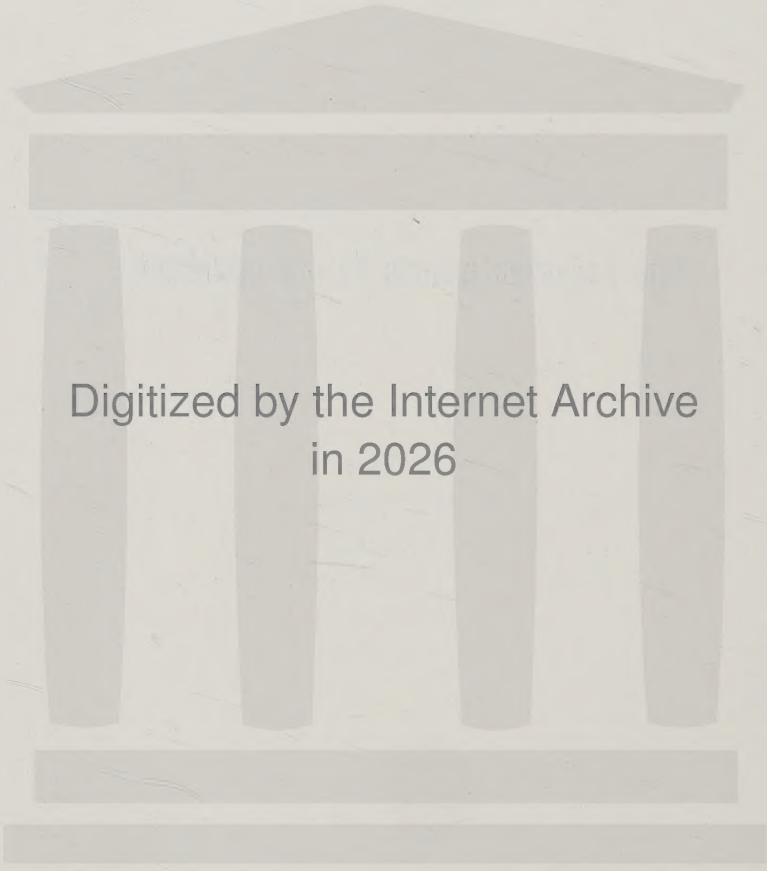
Basel, den 30. November 1928

A. L. Bernoulli,
Dekan

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus Jahrbücher für wissenschaftl. Botanik. Bd. 70 Heft 2
Gebrüder Borntraeger, Leipzig

Dem Andenken meines Vaters gewidmet


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546714_0080

# Inhaltsübersicht


Seite

Einleitung . . . . . 278

Abschnitt I. Zur Methode der Gerbstoffbestimmung . . . . . 281

1. Extraktion der Gerbstoffe . . . . . 281
   a) Vorbehandlung des Materials . . . . . 281
   b) Apparatur . . . . . 282
   c) Extraktionsmittel . . . . . 283
   d) Nachprüfung der Methode von Michel-Durand . . . . . 286
2. Quantitative Bestimmung der Gerbstoffe im Extrakt . . . . . 290
   a) Kolorimetrisches Verfahren . . . . . 291
   b) Titrimetrisches Verfahren . . . . . 291
      α) Fällung . . . . . 292
      β) Titration . . . . . 294
3. Durchführung der Versuche . . . . . 295
   a) Zerkleinerung und Trocknung des Materials . . . . . 295
   b) Vorextraktion und Extraktion . . . . . 296
   c) Fällung und Titration . . . . . 297

Abschnitt II. Über den Zustand der Gerbstoffe in den Zellen . . . . . 298

1. Beweise für das Vorhandensein einer Adsorptionsverbindung der Gerbstoffe in den Eicheln . . . . . 298
   a) Extraktionsverhältnisse bei anderen gerbstoffhaltigen Pflanzenteilen 299
   b) Extraktion der Gerbstoffe aus frischen Schnitten . . . . . 302
   c) Modellversuche über die Löslichkeitsverhältnisse von Adsorptionsverbindungen des Tannins . . . . . 303
2. Erklärungsmöglichkeiten für die Löslichkeitsverhältnisse der Adsorptionsverbindungen der Gerbstoffe . . . . . 306
3. Eventuelle Bedeutung der Gerbstoffadsorbentien für die Pflanze . . . 307

Abschnitt III. Verhalten der Gerbstoffe während der Keimung . . . . . 312

1. Versuchsmaterial . . . . . 312
2. Beobachtungen an keimenden Eicheln . . . . . 314
3. Quantitative Bestimmungen der Gerbstoffe während der Keimung . . 316
   a) Versuchsanordnung . . . . . 316
   b) Bezugsgrößen . . . . . 317
   c) Besprechung der Resultate . . . . . 318

Abschnitt IV. Zusammenfassung der Versuchsergebnisse . . . . . 322

1. Methodisches . . . . . 322
2. Zustand der Gerbstoffe in der Pflanzenzelle und die Möglichkeit einer Erklärung ihrer Unschädlichkeit . . . . . 323
3. Verhalten der Gerbstoffe bei der Keimung von *Quercus ballota* . . 324

Literaturverzeichnis . . . . . 325

## Einleitung.

Die Frage, welche Rolle die Gerbstoffe im Stoffwechsel der Pflanzen spielen, ist schon oft behandelt worden, ohne daß bis jetzt eine befriedigende Lösung gefunden worden wäre.

Es ist unmöglich, hier alle Arbeiten, die sich mit dieser Frage befassen, aufzuführen und einer kritischen Betrachtung zu unterziehen. Zusammenfassende Übersichten über die bisher erhaltenen Resultate finden sich bei Dekker (1913), van Wisselingh (1915) und neuerdings bei Lutz (1928).

Aus allen diesen Angaben geht hervor, daß unsere Kenntnisse über die Rolle der Gerbstoffe noch recht gering sind, und daß die Ansichten, die man sich darüber gebildet hat, größtenteils nur den Wert von Hypothesen haben.

Da die Frage nach der Rolle der Gerbstoffe von ganz verschiedenen Seiten in Angriff genommen und in eine Fülle von Teilproblemen zerlegt werden kann, will ich mich hier, ohne den Wert vieler dieser früheren Beobachtungen und Hypothesen zu verkennen, auf die Erwähnung einiger besonders zuverlässiger und sorgfältig ausgeführter Arbeiten beschränken, deren Resultate für die vorliegenden Untersuchungen von Wichtigkeit sind.

Hierher gehören vor allem die Untersuchungen van Wisselinghs (1915) über die Rolle des Gerbstoffs bei *Spirogyra* und die Arbeit Lloyds (1910) über die Entwicklung des Samens von *Phoenix dactylifera*.

Van Wisselingh stellte fest, daß der Gerbstoff bei *Spirogyra* im Momente der Zellteilung verschwindet, und schließt daraus, daß

er zum Aufbau der Zellwand dient. Lloyd beobachtete das Verschwinden des Gerbstoffs im Keimling und im Endosperm von *Phoenix dactylifera* im Verlauf des Reifens der Samen. Hier besteht die Möglichkeit, daß der Gerbstoff in Reservecellulose umgewandelt wird.

Wiesner (1865), sowie Bastin und Trimble (1896) betrachteten die Gerbstoffe auf Grund von mikroskopischen Beobachtungen als Zwischenprodukte bei der Harzbildung.

Diese Arbeiten haben das gemeinsam, daß sie alle auf mikroskopischen Beobachtungen fußen. Was man nun auch gegen die quantitative Auswertung mikroskopischer Beobachtungen einwenden mag, so muß man doch zugeben, daß bei sorgfältiger Ausführung der Untersuchungen den Resultaten der mikroskopischen Beobachtung mehr Bedeutung zukommt als den Ergebnissen der bisherigen quantitativen Gerbstoffbestimmungen, denen meistens große Fehler anhaften. Als Fehlerquellen kommen hier hauptsächlich in Betracht: erstens die Mitbestimmung anderer Extraktivstoffe, z. B. wenn die Gerbstoffe nicht durch Fällung isoliert werden (Kraus), zweitens die unvollkommene Extraktion der Gerbstoffe (Daniel, Michel-Durand). Diese Fehler werden beim direkten mikroskopischen Nachweis der Gerbstoffe im Gewebe vermieden, sofern die notwendigen Vorsichtsmaßregeln beachtet werden und das angewandte Reagens wirklich nur den Gerbstoff der betreffenden Pflanze anzeigt.

Die mikroskopische Methode kann jedoch nur dann verwendet werden, wenn es sich wie bei *Spirogyra* und *Phoenix* um relativ große Unterschiede im Gerbstoffgehalt handelt. Kleinere Differenzen, besonders in gerbstoffreichen Geweben, können mit dieser Methode nicht festgestellt werden. Außerdem muß noch beachtet werden, daß auf diese Weise nicht der absolute Gerbstoffgehalt einer Pflanze bestimmt wird, sondern daß immer nur der relative Gerbstoffgehalt eines Pflanzenteiles, durch den der Schnitt geführt wurde, geschätzt werden kann.

Diese Schwierigkeiten spielen bei den Untersuchungen von van Wisselingh und Lloyd keine Rolle, da es sich um verhältnismäßig einfache Objekte handelt. Bei anderen Versuchsobjekten, z. B. bei Keimlingen höherer Pflanzen, kann uns die mikroskopische Untersuchung lediglich ein Bild von der Verteilung der Gerbstoffe geben. In diesem Falle bleibt nur die Wahl einer quantitativen Methode übrig.

Bei allen diesen Untersuchungen muß man sich aber klar sein, daß auch bei Anwendung einer einwandfreien Methode die Resultate nicht ohne weiteres eindeutig beurteilt werden können. Gehen wir nämlich von der in den oben zitierten Arbeiten vertretenen Ansicht aus, daß der Gerbstoff als ein Zwischenprodukt anzusehen sei, so ist klar, daß in diesem Falle die in jedem Zeitpunkt vorhandene Gerbstoffmenge von dem Verhältnis zwischen Produktion und Verbrauch des Gerbstoffs abhängt. Nimmt die Produktion zu oder der Verbrauch ab, so häuft sich der Gerbstoff an; die Menge wird größer, ohne daß aus dieser Tatsache geschlossen werden dürfte, daß der Gerbstoff ein Endprodukt des Stoffwechsels sei.

Aller Wahrscheinlichkeit nach kommt nun nicht allen Gerbstoffen dieselbe Bedeutung zu. Um aber den Beweis zu erbringen, daß die Gerbstoffe tatsächlich Zwischenprodukte des Stoffwechsels oder Reservestoffe sein können, müssen wir Versuchsobjekte finden, bei denen in einer gewissen Entwicklungsphase eine Abnahme des Gerbstoffgehalts nachgewiesen werden kann. Bei *Spirogyra* und bei der Dattel ist dieser Nachweis gelungen. Bei gerbstoffreichen Pflanzen wie den Eichen, die auch im Samen eine große Menge Gerbstoff enthalten, so daß man vermuten könnte, der Gerbstoff diene hier als Reservestoff und werde bei der Keimung verbraucht, konnte bisher mit quantitativen Methoden immer nur eine Zunahme des Gerbstoffgehalts im Laufe der Entwicklung festgestellt werden (Michel-Durand, 1925 u. 1928). Es schien darum, als ob der Gerbstoff gerade bei diesen gerbstoffreichen Pflanzen als Endprodukt des Stoffwechsels zu betrachten sei. Nun scheint aber bei gewissen Eicheln von *Quercus ilex* während der Keimung eine Abnahme der Gerbstoffe stattzufinden; schreibt doch Brockmann-Jerosch (1925, S. 800): „Auch die Eichen waren einst Kulturpflanzen ....., wobei es sich in erster Linie um süße, d. h. um gerbstoffarme Früchte handelte, bei denen der Zuckergehalt gut zu schmecken ist. Es müssen mehrere Behandlungsarten angewendet worden sein, um den Gerbstoff aus den Früchten zu entfernen. Auch gibt es einen natürlichen Vorgang, der dazu zu führen scheint: die Keimung. Die Portugiesen gebrauchen im Gebirge auch heute noch, wenigstens gelegentlich, die Früchte von *Quercus ilex* als Nahrung und dazu warten sie bis zur Keimung, weil dann der Gerbstoff verschwindet."

Diese Angabe schien auf ein geeignetes Objekt für die oben besprochene quantitative Untersuchung der Gerbstofffrage hinzu-

weisen. Sollte es gelingen, bei der Keimung von *Quercus ilex* tatsächlich eine Abnahme der Gerbstoffe festzustellen, so wäre damit erwiesen, daß die Gerbstoffe als Reservesubstanz dienen können.

## Abschnitt I.

## Zur Methode der Gerbstoffbestimmung.

Die Widersprüche in den Resultaten der bisher ausgeführten quantitativen Untersuchungen über die Rolle der Gerbstoffe sind, neben dem Fehlen eines geeigneten Versuchsobjekts und der richtigen Wahl der Bezugsgrößen, wohl hauptsächlich auf die großen Schwierigkeiten zurückzuführen, die sowohl die Extraktion der Gerbstoffe aus dem Pflanzenmaterial, als auch ihre Bestimmung bieten. Voraussetzung für die Durchführung der vorliegenden Untersuchung war darum die Ausarbeitung einer für den Gerbstoff der Eicheln geeigneten Extraktions- und Bestimmungsmethode.

### 1. Extraktion der Gerbstoffe.

Beim Durchgehen der Gerbstoffliteratur erhält man den Eindruck, daß im allgemeinen der Extraktion der Gerbstoffe weniger Aufmerksamkeit geschenkt wird als ihrer Fällung und Bestimmung. Es mag dies damit zusammenhängen, daß oft schon Lösungen zur Untersuchung vorliegen, und daß, wo das nicht der Fall ist, einfach die Extraktionsmethoden der Technik verwendet werden. Bei Analysen zu technischen Zwecken mögen die durch diese Methoden bedingten Fehler ohne Bedeutung sein. In unserem Falle ist jedoch die möglichst vollkommene Extraktion der Gerbstoffe von größter Wichtigkeit. Wir werden sehen, daß bei Anwendung einer sehr gebräuchlichen, aber für ein bestimmtes Objekt, z. B. für Eicheln, ungeeigneten Extraktionsmethode große Mengen von Gerbstoff für die Bestimmung verloren gehen können.

#### a) Vorbehandlung des Materials.

Bei der Extraktion der Gerbstoffe muß vor allem jede Behandlung vermieden werden, die eine chemische Veränderung der Gerbstoffe zur Folge haben könnte. Wenn man aber einen gerbstoffhaltigen Pflanzenteil anschneidet, so erfolgt schon beim Zutritt der Luft eine Bräunung der Schnittfläche. Diese Veränderung ist auf eine

Oxydation der Gerbstoffe unter Einwirkung von Oxydasen zurückzuführen. Es ist somit schon unmöglich, Pflanzenteile ohne besondere Vorsichtsmaßregeln zum Zwecke der Extraktion zu zerkleinern. Darum müssen vor allem die Oxydasen abgetötet werden. Dies gelingt sehr gut nach der Methode von Lüers (1926) zur Erhaltung präexistierender Pflanzenstoffe.

Die Pflanzenteile, in unserem Falle die Eicheln, werden am besten mit einem rostfreien Messer sehr fein zerschnitten und sofort in ca. 90proz. Alkohol verbracht. Der Alkohol wird auf dem Wasserbad unter ständigem Umrühren verdampft, und dann wird das trockene, in der Farbe vollkommen unveränderte Material in einer Reibschale fein zerrieben. Keimlinge, die sich trocken nicht gut zerreiben lassen, werden nach dem Zerschneiden im Alkohol möglichst gut zerquetscht; im Laufe der Extraktion können sie dann in feuchtem Zustande noch einmal in der Reibschale zerrieben werden. Nur so ist eine genügende Zerkleinerung ohne zu großen Materialverlust möglich.

### b) Apparatur.

Die Extraktion selbst muß bei Zimmertemperatur vorgenommen werden. Nach Riegel (1884, zit. bei Dekker) soll sich nämlich der Gerbstoffgehalt eines Extraktes beim Kochen verringern. Wie groß der Verlust ist, gibt Dekker nicht an, und leider war es mir unmöglich, die Originalarbeit zu erhalten. Außerdem kann sich, wie wir später sehen werden (S. 287), der Gerbstoff schon im Pflanzenmaterial verändern und unlöslich werden, so daß man ihn überhaupt nicht mehr zu extrahieren vermag. Aus diesen Gründen ist eine Extraktion im Soxhlet-Apparat womöglich zu vermeiden.

Für die Durchführung von Kaltextraktionen werden meistens Perkolatoren verwendet, in denen das Lösungsmittel langsam durch das gerbstoffhaltige Material sickert. Diese Methode hat aber den Nachteil, daß die konzentrierte Lösung verhältnismäßig lange mit den Rückständen in Berührung bleibt. Wie Müller (1898, zit. bei Dekker S. 528) nachgewiesen hat, geht jedoch der Gerbstoffgehalt einer Lösung bei längerem Stehen auf den Pflanzenresten zurück; außerdem fällt der Gerbstoff in einer allzu konzentrierten Lösung leicht aus und kann dann nur sehr schwer wieder gelöst werden.

Um diese Fehler auszuschalten, wurden die Extraktionen auf Nutschen ausgeführt. Auf diese Art und Weise ist es möglich, das Material rasch hintereinander mit kleinen Mengen des Lösungs-

mittels auszuziehen. Besonders bei Beginn der Extraktion wurde das Lösungsmittel nur ganz kurze Zeit (2—4 Min.) auf dem Material stehen gelassen. Dadurch kann man verhindern, daß eine allzu konzentrierte Lösung entsteht. Das Absaugen des Filtrats darf, besonders bei Verwendung von leicht flüchtigen Extraktionsmitteln, nur unter schwach vermindertem Druck (ca. — 30 bis — 40 cm Hg) geschehen. Der Extrakt gerät sonst beim Austreten aus der Nutsche ins Sieden, und dabei fällt der Gerbstoff im Filter aus.

#### c) Extraktionsmittel.

I. Vorextraktion: Für die vorliegenden Untersuchungen mußte es von Wichtigkeit sein, eventuell vorhandene Gallussäure getrennt von den Gerbstoffen zu bestimmen. Darum wurde eine Vorextraktion mit wasserfreiem Äther durchgeführt, der bekanntlich nur die freie Gallussäure löst. Dabei müssen natürlich Nutsche und Pflanzenmaterial vollkommen trocken sein. In keinem Falle konnte das Vorhandensein von Gallussäure festgestellt werden. Diese Vorextraktion wurde jedoch beibehalten, da durch den Äther ein gelbes Harz aus dem Eichelpulver herausgelöst wird. Damit werden zwei Vorteile erreicht: erstens wird durch die Entfernung der ätherlöslichen Substanzen die Menge der Begleitstoffe im eigentlichen Extrakt vermindert, und zweitens wird eine Verstopfung der Nutsche durch das Harz bei Anwendung von stark wasserhaltigen Lösungsmitteln verhindert.

II. Extraktion: Zur Extraktion der Gerbstoffe sind bisher die verschiedensten Lösungsmittel verwendet worden, hauptsächlich wasserhaltiger Äther, Alkohol, Aceton und Wasser. Czapek (1921) ist der Ansicht, daß Aceton als Extraktionsmittel für Gerbstoffe anderen Lösungsmitteln vorgezogen werden sollte, und Freudenberg (1920, S. 27) weist darauf hin, daß organische Lösungsmittel, z. B. Aceton, zur Zerlegung von Adsorptionsverbindungen der Gerbstoffe besonders geeignet seien. Seitdem nun Lloyd (1912, 1922) durch zahlreiche Untersuchungen festgestellt hat, daß wir es bei den meisten gerbstoffhaltigen Pflanzen nicht mit freiem Gerbstoff, sondern mit einer Adsorptionsverbindung desselben zu tun haben, müssen wir diese Eigenschaft organischer Lösungsmittel, solche Verbindungen zu zerlegen, vor allem berücksichtigen. Darum wurde versucht, die Extraktion mit wasserhaltigem Alkohol und Aceton auszuführen. Da sich aber die alkoholische Lösung sehr leicht trübte, wurde zu den Extraktionen nur noch Aceton verwendet.

Es zeigte sich jedoch bald, daß der Wassergehalt des Acetons die Löslichkeit der Gerbstoffe stark beeinflußt. So wurde z. B. mit ca. 80 proz. Aceton viel weniger Gerbstoff erhalten als mit ca. 50proz. Es war darum notwendig, dasjenige Mengenverhältnis Aceton : Wasser zu bestimmen, bei dem der Gerbstoff am leichtesten und annähernd quantitativ extrahiert wird. Zu diesem Zwecke wurden ungefähr gleiche Mengen Eichelpulver mit je 360 ccm Aceton verschiedener Konzentration in Portionen von 20 ccm unter möglichst gleichbleibenden Bedingungen extrahiert. Die Resultate dieser Bestimmungen sind in Tabelle 1 und Fig. 1 wiedergegeben und sollen später noch näher besprochen werden. Es ergibt sich danach, daß durch 40proz. Aceton am meisten Gerbstoff extrahiert wird.

Tabelle 1.

| Extraktionsmittel | $H_2O$ | Aceton | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 15 % | 30 % | 40 % | 50 % | 70 % | 90 % | 100 % |
| mg Tannin pro 1 g Trockengewicht | 56,8 | 65,1 | 72,3 | 73,2 | 71,9 | 69,8 | 45,0 | 0 |
| | 51,4 | 66,9 | — | 73,5 | 72,0 | 71,4 | 48,0 | — |
| | 52,5 | — | — | — | 71,1 | — | — | 0 |
| | 55,6 | — | — | — | — | — | — | 0 |
| Mittelwert . . . | 54,1 | 66,0 | 72,3 | **73,4** | 71,7 | 70,6 | 46,5 | 0 |

Da die Menge von 360 ccm Extraktionsmittel, wie sie für diese Extraktionen angewendet wurde, mehr oder weniger willkürlich gewählt worden war, bestand die Möglichkeit, daß bei Anwendung einer größeren Menge noch mehr Gerbstoff erhalten würde, und daß sich infolgedessen das Maximum der Kurve nach der einen oder der anderen Seite verschieben würde. Darum wurden drei Portionen Eichelpulver, von denen die eine mit 360 ccm $H_2O$, die beiden anderen mit 40proz. und 70proz. Aceton extrahiert worden waren, mit weiteren 420 ccm der entsprechenden Extraktionsmittel nachextrahiert. Die Resultate sind in Tabelle 2 wiedergegeben.

Tabelle 2.

| | mg Tannin erhalten pro 1 g Trockengewicht bei Extraktion mit | | |
|---|---|---|---|
| | $H_2O$ | 40 % Aceton | 70 % Aceton |
| 1. In 360 ccm . . . . . | 56,8 | 73,5 | 69,8 |
| 2. In weiteren 420 ccm . . . . . | 0 | 0 | 1,6 |

Mit $H_2O$ und 40proz. Aceton ist also die Extraktion bei Anwendung von 360 ccm Flüssigkeit beendet. Mit 70proz. Aceton kann noch eine geringe Menge Gerbstoff extrahiert werden, ohne daß jedoch der mit 40proz. Aceton erhaltene Wert erreicht wird.

Da der durch 40proz. Aceton extrahierte Gerbstoff sich auch in Wasser vollkommen auflöst, vermutete ich zuerst, die schlechtere Extraktion durch reines Wasser rühre eventuell nur von einer zu starken Verquellung des Materials her, indem dadurch dem Lösungsmittel der Zutritt zu den kleinsten Teilchen unmöglich gemacht würde. Daher versuchte ich, durch Trocknen des Materials und darauffolgende Nachextraktion mit Wasser den zurückgebliebenen Gerbstoff noch zu extrahieren. Es konnte bei dieser Nachextraktion jedoch nur eine geringe Menge Gerbstoff erhalten werden, viel zu wenig, als daß eine quantitative Extraktion mit reinem Wasser in Betracht käme. Da aber die Möglichkeit besteht, daß auch bei Extraktion mit 40proz. Aceton nach dem Trocknen in manchen Fällen noch etwas Gerbstoff erhalten werden könnte, wurde bei der Ausführung der physiologischen Versuche eine Trocknung des Materials in die Extraktion eingeschaltet.

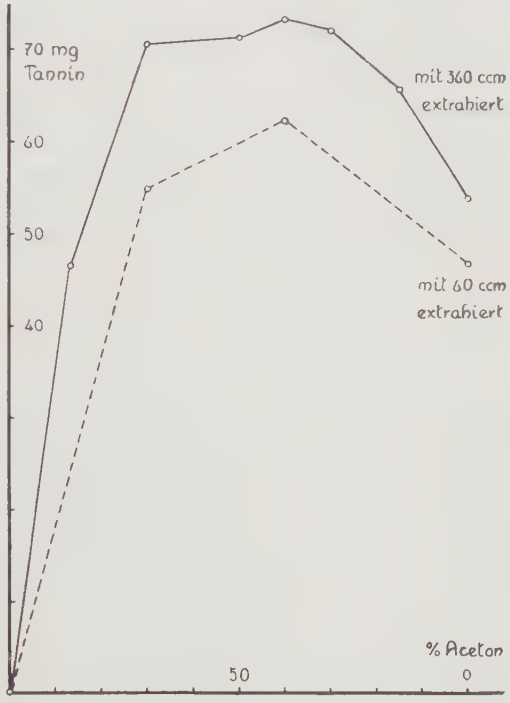



Fig. 1.

Extraktionskurven von Eichelpulver *(Quercus pedunculata)*.

Die Tatsache nun, daß in dem in Tabelle 2 wiedergegebenen Versuch durch 70proz. Aceton immer noch Gerbstoff extrahiert wird, während nach der ersten Extraktion mit $H_2O$ und 40proz. Aceton kein Gerbstoff mehr in Lösung geht, ist darauf zurückzuführen, daß die Extraktion mit dem wasserärmeren Lösungsmittel

von Anfang bis zu Ende gleichmäßiger verläuft als mit dem stärker wasserhaltigen. Mit $H_2O$ dagegen wird in den ersten paar Portionen schon der größere Teil des mit diesem Lösungsmittel extrahierbaren Gerbstoffs erhalten. Das zeigt auch die gestrichelte Kurve in Fig. 1. Diese Werte wurden bei Extraktion mit nur drei Portionen Lösungsmittel, also im ganzen mit 60 ccm erhalten. Die Entfernung der beiden Kurven voneinander nimmt sowohl absolut als auch prozentual von 70proz. Aceton bis zu reinem Wasser ab.

Für meine Untersuchungen kommt also nur die Anwendung von 40proz. Aceton in Betracht. Zwar kann auch nach der Extraktion mit 40proz. Aceton mit der $FeCl_3$-Probe im Pflanzenmaterial noch Gerbstoff nachgewiesen werden. Wie wir aber im folgenden Abschnitt sehen werden, handelt es sich hier nur um geringe Mengen, die man noch durch eine nachträgliche Extraktion mit Wasser bei 100° im Soxhlet-Apparat herausholen kann.

#### d) Nachprüfung der Methode von Michel-Durand.

Erst im Laufe meiner Untersuchungen wurde ich auf die Arbeiten von Michel-Durand (1924, 1926) aufmerksam[1]), der sich eingehend mit der Frage der Extraktion der Gerbstoffe befaßt hat. Er schenkt jedoch seine Aufmerksamkeit ausschließlich der Wahl des Extraktionsmittels und führt ohne Berücksichtigung des Temperatureinflusses von vornherein alle Extraktionen bei Siedetemperatur im Soxhlet-Apparat aus. Auf Grund der Prüfung der verschiedensten organischen Lösungsmittel auf ihre Eignung als Extraktionsmittel für Gerbstoffe kommt Michel-Durand zu dem Schlusse, daß aus verschiedenen gerbstoffhaltigen Materialien, wie Kastanienholz, Rebenholz und Eicheln, mit reinem Wasser bei 100° C am meisten Gerbstoff erhalten werde. Dieses Resultat scheint ihm besonders als Bestätigung der Befunde von Lloyd von Bedeutung zu sein, daß nämlich die Gerbstoffe in den Pflanzen meistens in einer Adsorptionsverbindung mit einem pektinartigen Körper vorkämen. Er nimmt an, dieser pektinartige Körper werde von dem siedenden Wasser zum Quellen gebracht und könne dann den gebundenen Gerbstoff abgeben, während in organischen Lösungsmitteln eine Koagulation der Adsorptionsverbindungen eintrete. Immerhin er-

1) Diese wichtige Literaturangabe verdanke ich Herrn Dr. A. Frey aus Zürich, dem ich auch an dieser Stelle meinen besten Dank dafür aussprechen möchte.

hält Michel-Durand auch mit Aceton bis 25 % der mit Wasser im Soxhlet-Apparat extrahierbaren Gerbstoffmenge.

Es ist klar, daß ich, nachdem mir die Arbeiten von Michel-Durand in die Hände gelangt waren, einen Vergleich zwischen den Resultaten der eingangs beschriebenen Methode und denjenigen dieses Forschers ausführen mußte. Das gleiche Pulver, das ich für die Ausarbeitung der Extraktionsmethode verwendet hatte, wurde nun mit Wasser im Soxhlet-Apparat extrahiert. Zum Vergleich mit den in Tabelle 1 wiedergegebenen Werten wurde auch im Soxhlet-Apparat eine Extraktion mit reinem Aceton ausgeführt. Mit Aceton-Wassermischungen kann dagegen infolge des verschiedenen Siedepunkts der beiden Flüssigkeiten nicht extrahiert werden. Die Resultate dieser Versuche sind in Tabelle 3 verzeichnet.

Tabelle 3.

| | mg Tannin pro g Trockengewicht extrahiert mit | | |
|---|---|---|---|
| | $H_2O$ | 40 % Aceton | 100 % Aceton |
| 1. auf der Nutsche . . . . . | 54,1 | 73,36 | 0 |
| 2. im Soxhletapparat . . . . . | 49,84 | — | 1,28 |

Die Tabelle zeigt, daß die Extraktion im Soxhlet-Apparat zur quantitativen Bestimmung der Eichelgerbstoffe ungeeignet ist. Bei 100° C wird im Soxhlet-Apparat durch Wasser sogar weniger Gerbstoff extrahiert als bei Zimmertemperatur auf der Nutsche. Vergleichen wir die im Soxhlet-Apparat extrahierbare Gerbstoffmenge mit derjenigen, welche bei Nutschenextraktion mit 40proz. Aceton erhalten werden kann, so sehen wir, daß im ersten Falle ca. 32 % des Gerbstoffs verloren gegangen sind.

Im Hinblick auf Riegels Untersuchungen (1884) könnte man annehmen, daß dieser Verlust zum Teil auf eine Veränderung der extrahierten Gerbstoffe durch das Kochen des Filtrats zurückzuführen sei, obwohl ich ein langes Kochen der ersten konzentrierten Extrakte sorgfältig vermieden habe.

Eine größere Bedeutung scheint mir aber folgende Veränderung des Rückstands zu haben. Entfernt man nämlich nach der Extraktion das Material aus dem Filter und schneidet die verquollene Masse entzwei, so nimmt man deutlich eine tiefrote Färbung wahr. Das Material gibt mit $FeCl_3$ keine Gerbstoffreaktion mehr; auch kann nach dem Trocknen auf der Nutsche mit 40proz. Aceton kein löslicher

Gerbstoff mehr daraus erhalten werden. Wir müssen darum annehmen, der Gerbstoff sei durch Hitze verändert und unlöslich gemacht worden. Die Rotfärbung des Rückstandes deutet allem Anschein nach auf die Bildung von unlöslichem Gerbstoffrot hin.

Mit 100proz., d. h. über geglühtem $CuSO_4$ aufbewahrtem Aceton, kann auch im Soxhlet-Apparat nur eine geringe Menge Gerbstoff extrahiert werden.

Wenn nun Michel-Durand bei der Extraktion mit „Aceton" aus Eicheln bis zu 25% der gesamten Gerbstoffmenge erhält, so rührt das allem Anschein nach daher, daß er die Extraktion an frischem Material (ca. 50% $H_2O$) ausführt, also eigentlich mit wasserhaltigem Aceton extrahiert. Zudem enthält das käufliche Aceton, wenn es nicht zuvor wasserfrei gemacht wird, immer 1—2% Wasser. Nach den auf S. 284 wiedergegebenen Resultaten der Extraktion mit wasserhaltigem Aceton ist klar, daß auch bei einem so geringen Wassergehalt namentlich bei Siedetemperatur beträchtliche Mengen Gerbstoff extrahiert werden können.

Eine Unterscheidung von acetonlöslichem und in Aceton unlöslichem Gerbstoff, wie sie Michel-Durand (1925, 1928) durchführt, hat also keine Berechtigung, da ja die Menge des mit Aceton extrahierbaren Gerbstoffs im wesentlichen vom Wassergehalt des Pflanzenmaterials abhängt. Es ist z. B. klar, daß vor dem herbstlichen Blattfall die Menge des „acetonlöslichen" Gerbstoffs in den Blättern abnehmen muß, da auch deren Wassergehalt beträchtlich zurückgeht (68—49%). (Michel-Durand, 1928.) Damit soll nicht gesagt sein, daß nicht während des Vergilbens der Blätter gewisse Veränderungen in der Menge und im Zustand der darin enthaltenen Gerbstoffe stattfinden könnten. Es ist nur unstatthaft, aus den bei der Extraktion im Soxhlet-Apparat erhaltenen Resultaten in dieser Hinsicht irgendwelche Schlüsse zu ziehen.

Michel-Durand nimmt z. B. an, die Tatsache, daß aus *Spirogyra* schon mit Aceton im Soxhlet-Apparat aller Gerbstoff erhalten wird, sei als Beweis dafür anzusehen, daß, wie dies auch van Wisselingh annimmt, in *Spirogyra* der Gerbstoff in freiem Zustande, also ohne Adsorbens, vorkomme. Wir werden nun sehen (S. 304), daß die Unlöslichkeit in 100% Aceton tatsächlich ein Merkmal der Adsorptionsverbindungen der Gerbstoffe ist. Im Gegensatz zu der Ansicht Michel-Durands ist aber die Löslichkeit solcher Adsorptionsverbindungen in wasserhaltigem Aceton größer als in reinem Wasser. Wenn nun Michel-Durand aus frischen Spirogyren,

die ca. 90% Wasser enthalten, mit Aceton (das wahrscheinlich an und für sich schon nicht wasserfrei ist) allen Gerbstoff extrahieren kann, so ist dies noch kein Beweis dafür, daß kein Adsorbens vorhanden ist; denn das Extraktionsmittel ist wenigstens im Anfang der Extraktion stark wasserhaltig.

Erst wenn es gelingt, mit 100proz. Aceton aus trockenem *Spirogyra*-Material Gerbstoff zu extrahieren, können wir darin einen Beweis für die Ansicht van Wisselinghs erblicken, daß in *Spirogyra* der Gerbstoff tatsächlich (wenigstens zum Teil) frei vorhanden ist[1]).

Daß es tatsächlich auch Objekte gibt, bei denen der Gerbstoff schon an 100proz. Aceton abgegeben wird, zeigen uns Extraktionsversuche an Eichengallen. Hier können wir wirklich von „acetonlöslichem" oder besser von „mit Aceton extrahierbarem" Gerbstoff sprechen: und nach den Resultaten der später zu besprechenden (S. 303 ff.) Modellversuche dürfen wir auch annehmen, daß hier freier Gerbstoff vorhanden ist.

Mit diesen Ausführungen soll nun keineswegs gesagt sein, daß die Extraktion auf der Nutsche mit 40proz. Aceton für alle Gerbstoffe die geeignetste sei. Es müssen wohl für jeden besonderen Fall alle in Betracht kommenden Extraktionsmethoden ausprobiert werden, bevor eine davon gewählt werden darf. Wir werden nämlich sehen (S. 301), daß z. B. aus getrockneten Bananenschalen im Soxhlet-Apparat mit $H_2O$ viel mehr Gerbstoff erhalten werden kann als mit 40proz. Aceton auf der Nutsche. Natürlich ist nicht ausgeschlossen, daß auch hier Gerbstoff durch Unlöslichwerden verloren geht, obwohl es sich um einen von demjenigen der Eicheln vollständig verschiedenen Gerbstoff handelt. Es wäre möglich, daß bei eingehender Untersuchung für den Gerbstoff der Bananen ein besseres Extraktionsmittel gefunden würde als Aceton; andernfalls müßte man hier eben in Ermanglung einer besseren Methode bei der Extraktion im Soxhlet-Apparat bleiben.

Nachdem sich bei der Extraktion von Bananenschalen gezeigt

1) Bei der Extraktion mit 100proz. Aceton braucht nicht aller Gerbstoff gelöst zu werden. Es ist ja klar, daß wenigstens ein Teil des Gerbstoffs beim Trocknen an Plasma und Zellwände adsorbiert wird und infolgedessen durch 100proz. Aceton nicht gelöst werden kann; ja, es könnte sogar der Fall eintreten, daß bei geringem Gerbstoffgehalt des Materials aller Gerbstoff adsorbiert würde. Aus diesem Grunde könnte auch ein negativer Ausfall der Extraktion mit 100proz. Aceton noch nicht als Gegenbeweis für die Ansicht van Wisselinghs angesehen werden.

hatte, daß durch die Extraktion im Soxhlet-Apparat sozusagen eine energischere, für die Extraktion der Eicheln nur zu energische Wirkung zu erzielen ist, schien die Möglichkeit zu bestehen, den nach der Extraktion auf der Nutsche durch die $FeCl_3$-Reaktion im Eichelmehl noch feststellbaren Gerbstoff vollends zu extrahieren. Da diese Nachextraktion nur kurze Zeit dauert, kommt der durch die Hitze zerstörbare Prozentsatz des zurückgebliebenen Gerbstoffs kaum in Betracht.

Die Nachextraktion im Soxhlet-Apparat konnte leider nur noch bei den allerletzten Versuchen ausgeführt werden. Das Ergebnis betrug in Prozenten der bei der Extraktion mit 40 proz. Aceton erhaltenen Menge für Kotyledonen 0,4%, für Keimlinge 3,0%. Da diese Unterschiede verhältnismäßig gering sind, und zu wenig Bestimmungen vorliegen, wurden die Zuschläge für die physiologischen Versuche nicht berechnet, besonders da hierdurch am Sinn der Resultate nichts geändert würde.

Daß bei Keimlingen der Gerbstoff nicht so vollständig extrahiert wird wie bei den Kotyledonen, mag einerseits an der weniger guten Zerkleinerung, andererseits aber vielleicht am Vorhandensein weniger leicht löslicher Gerbstoffe in der Rinde der Wurzeln und der Stengel liegen.

## 2. Quantitative Bestimmung der Gerbstoffe im Extrakt.

In seiner botanisch-chemischen Monographie der Gerbstoffe (1913) führt Dekker nicht weniger als 83 Bestimmungsmethoden für Gerbstoffe an, von denen er alle mit Ausnahme der internationalen Hautpulvermethode mehr oder weniger stark kritisiert. Nun ist aber gerade die Hautpulvermethode, wie Freudenberg (1920, S. 36) bemerkt, für pflanzenphysiologische Untersuchungen unbrauchbar, da nach diesem Verfahren nur ganz bestimmte Gerbstoffe, die eben für die Lederbereitung von Bedeutung sind, zur Bestimmung gelangen. Freudenberg empfiehlt dagegen für solche Untersuchungen die Methode von Wislicenus: Bestimmung der Trockensubstanz im ursprünglichen und in dem durch gewachsene Tonerde entgerbten Extrakt. Da mir diese Angabe jedoch erst im Laufe meiner Untersuchung in die Hände kam, und außerdem die Durchführung dieser Methode einige praktische Schwierigkeiten bot, mußte für die vorliegende Arbeit von der Anwendung dieser Methode abgesehen werden.

Da die Gerbstoffe die Eigenschaft haben, basische Farbstoffe auszufällen, versuchte ich zuerst auf Grund dieser Reaktion eine kolorimetrische Bestimmungsmethode für Gerbstoffe auszuarbeiten. Diese Methode hätte den großen Vorteil, eine rasche Ausführung der Bestimmungen zu ermöglichen.

#### a) Kolorimetrisches Verfahren.

Je 5 ccm einer gesättigten Fuchsinlösung wurden mit je 1 ccm verschieden konzentrierter Tanninlösungen versetzt; der entstehende Niederschlag wurde abzentrifugiert, und die Farbintensität der überstehenden Fuchsinlösung im Kolorimeter mit derjenigen der Ausgangslösung verglichen.

Dabei ergab sich aber, daß durch gleiche Mengen Tannin verschiedene Mengen des Farbstoffes ausgefällt wurden. Die Fällung des Fuchsins durch Tannin ist von so vielen verschiedenen Faktoren abhängig, daß es vollkommen unmöglich erscheint, alle diese Faktoren konstant zu erhalten. So wird es z. B. nicht möglich sein, die Fuchsinlösung in bezug auf Konzentration, Teilchengröße und Acidität immer gleich herzustellen, und außerdem verändern sich diese Größen mit der Zeit auch in der einmal hergestellten Lösung. Dasselbe kann auch bei der Tanninlösung der Fall sein.

Bei pflanzlichen Extrakten muß sich die Sache noch ungünstiger gestalten. Hier können mitgelöste Salze die Fällung begünstigen oder hemmen, und durch eventuell vorhandene gefärbte Begleitstoffe kann der Vergleich der Lösungen im Kolorimeter überhaupt unmöglich gemacht werden.

Aus diesen Gründen erschien eine Verbesserung der Methode zu umständlich; ich sah darum von ihrer Anwendung ab.

#### b) Titrimetrisches Verfahren.

Freudenberg (1920, S. 37) wendet gegen die Titration von Gerbstoffen mit $KMnO_4$ ein, „daß verschiedene Gerbstoffe ungleiche Permanganatmengen verbrauchen“. Dieser Einwand ist hauptsächlich dann von Bedeutung, wenn es sich um den Vergleich des Gerbstoffgehaltes verschiedenartiger Pflanzen handelt, deren Gerbstoffe nicht dieselbe Konstitution haben. Bei gleichartigem Material kommt ein verschiedener Permanganatverbrauch kaum in Betracht, außer in dem Falle, daß die Samen vor und nach der Keimung verschiedene Gerbstoffarten enthalten. Wir müssen uns

darum fragen, in welcher Weise diese Tatsache des ungleichen Permanganatverbrauchs die Resultate beeinflussen könnte. Nehmen wir an, der Gerbstoff werde in Cellulose, Harz oder Lignin verwandelt, so kann die Abnahme des Gerbstoffs auch im Zurückgehen des Permanganatverbrauchs zum Ausdruck kommen, sofern nicht bei dieser Umwandlung stärker reduzierende Spaltungsprodukte des Gerbstoffes entstehen, die mit einem Gerbstoffällungsmittel ebenfalls ausfallen. Sollte aber, wie dies z. B. Lutz (1928) annimmt, der Gerbstoff dazu dienen, eine allzurasche Oxydation anderer Stoffe zu verhindern, also selbst veratmet werden, so kann über den Grad der Oxydation wohl am ehesten die Änderung des Permanganatverbrauchs Aufschluß geben.

Wir sehen also, daß sowohl die titrimetrische als auch die gravimetrische Methode ihre Vorteile haben. Zum Vergleich des prozentualen Gerbstoffgehalts verschiedener Pflanzenarten ist natürlich eine gravimetrische Methode vorzuziehen; dagegen kann uns vielleicht der relative Permanganatverbrauch eine bessere Vorstellung von der eventuellen Bedeutung des Gerbstoffs als Oxydationsmaterial geben.

Wie schon gesagt, wurde für die vorliegenden Untersuchungen aus praktischen Gründen eine titrimetrische Methode gewählt.

#### α) Fällung.

Dekker nimmt im allgemeinen gegen die Methoden, die auf Fällung der Gerbstoffe durch Metallsalze beruhen, eine ablehnende Stellung ein, da die Gerbstoff-Metallsalzniederschläge in Wasser nicht unlöslich sein sollen. Mehr Anerkennung finden bei ihm Adsorption und Fällung durch Eiweißstoffe (Hautpulver, Leim, Kasein) und durch Alkaloide.

Verschiedene neuere Untersuchungen haben gezeigt, daß die Fällung von Gerbstoffen durch Gelatine nur dann vollständig ist, wenn beide Stoffe in einem ganz bestimmten Mengenverhältnis aufeinander einwirken; außerdem kann das Vorhandensein gewisser Salze die Ausfällung störend beeinflussen. Das Vorhandensein von Salzen ist aber in pflanzlichen Extrakten nicht zu vermeiden. Aus diesem Grunde wurde von der Anwendung dieser Fällungsmethode abgesehen und zuerst versucht, Gerbstoff durch ein Alkaloid (Cinchoninsulfat) zu fällen. Für chinesisches Tannin ergab sich jedoch ein Verlust von über 40 Prozent der ursprünglich vorhandenen Mengen. Daraufhin wurde diese Methode fallen gelassen.

Im Gegensatz zu der Ansicht Dekkers über die Löslichkeit von Gerbstoff-Metallsalzfällungen ergab die Methode von Malvezin (Koch, 1922, S. 84): Fällung mit basischem Zinkacetat, bessere Resultate. Für eine Lösung von chinesischem Tannin wurde bei der Titration des gelösten Niederschlags derselbe Tanningehalt gefunden wie in der ursprünglichen Lösung. Hierauf wurde die Anwendung dieses Fällungsmittels auf ein aus Eicheln von *Quercus pedunculata* erhaltenes Extrakt geprüft, wobei das Extrakt nicht von Aceton befreit wurde. Im Filtrat des Niederschlags konnte kein Gerbstoff mehr nachgewiesen werden.

Die Fällung mit basischem Zinkacetat hat wohl hauptsächlich den einen Fehler, daß auch noch andere Stoffe, wie Zucker, Pektine usw., gefällt werden. Deshalb wurde versucht, die quantitative Fällung mit neutralem Zinkacetat zu erreichen. Bei chinesischem Tannin ist das nicht möglich. Anders verhält sich der Eichelextrakt. Bei diesem gelang es oft, eine vollkommene Fällung zu erhalten; oft aber war aus nicht bestimmbaren Gründen im Filtrat noch Gerbstoff nachweisbar. Deshalb mußte von der Anwendung des neutralen Zinkacetates abgesehen werden.

Da übrigens auch durch „gewachsene Tonerde", wie sie Freudenberg für quantitative Adsorption der Gerbstoffe bei physiologischen Versuchen empfiehlt, „Dextrin und Pflanzenschleim" aufgenommen wird, ist es fraglich, ob — abgesehen von der Bestimmungsweise (Wägung, Titration) — ein großer Unterschied in der Zuverlässigkeit der beiden (Tonerde-, Zinkacetat-) Methoden besteht.

Bei den Versuchen wurde also der Gerbstoff aus dem acetonhaltigen Extrakt mit basischem Zinkacetat gefällt. Nach dem auf S. 283 besprochenen Resultat der Extraktionsversuche, wonach eine Aceton-Wassermischung fähig ist, Adsorptionsverbindungen der Gerbstoffe zu zerlegen, und nach der Ansicht der Chemiker über die Natur der Metallsalzfällungen der Gerbstoffe (s. Dekker, S. 482) wäre an die Möglichkeit zu denken, daß der Niederschlag in einer acetonhaltigen Lösung nicht vollständig ausfalle.

Tabelle 4 jedoch, welche die Resultate wiedergibt, die bei der Gerbstoffbestimmung in einer acetonhaltigen und einer acetonfreien Tanninlösung erhalten wurden, zeigt uns, daß diese Erwartung nicht berechtigt ist. In beiden Lösungen wird derselbe

Gerbstoffgehalt gefunden, der bei direkter Titration der ursprünglichen Lösung festgestellt wurde.

Tabelle 4.

| | Ursprüngliche Lösung direkt titriert | Acetonhaltige Lösung gefällt | Acetonfreie Lösung gefällt |
|---|---|---|---|
| ccm $KMnO_4$ . . | 16,1 | 16,0 | 16,1 |
| mg Tannin . . . | 10,27 | 10,21 | 10,27 |

Der Unterschied von 0,1 ccm $KMnO_4$ liegt innerhalb der Fehlergrenze und hat also nichts zu bedeuten.

Gerbstoffbestimmungen in einem von Aceton durch Eindampfen befreiten Extrakt und in dem ursprünglichen acetonhaltigen Extrakt ergaben ebenfalls übereinstimmende Werte.

In den Extrakten aus älteren, bereits eingetrockneten Eicheln gelang die Fällung der Gerbstoffe mit basischem Zinkacetat ohne Schwierigkeit. Bei Extrakten aus frisch abgetöteten Eicheln ist etwas mehr Vorsicht notwendig. Vielleicht haben wir es eben im ersteren Fall mit Gerbstoffen zu tun, die beim langsamen Eintrocknen und Absterben der Eicheln durch Fermente verändert worden sind.

Die Extrakte aus frischen abgetöteten und getrockneten Eicheln dürfen nach dem Zusatz von basischem Zinkacetat nicht gekocht, sondern nur leicht erwärmt werden, bis der Niederschlag große Flocken bildet. Bei längerem Erhitzen verteilt sich der Niederschlag so fein, daß er sogar durch mit Talkum behandelte Filter hindurchgeht. Ferner darf nicht zu viel Zn-Acetatlösung zugesetzt werden, da in diesem Falle der Niederschlag von vornherein teilweise in kolloider Lösung gehalten wird und durch keine Mittel zum Ausfallen gebracht werden kann.

β) Titration.

Die Titration wurde, wie gesagt, nach der Methode von Malvezin ausgeführt, die aber etwas modifiziert werden mußte. Zur Lösung des Niederschlages wurde 2,5 proz. $H_2SO_4$ verwendet, vor der Titration jedoch zu je 20 ccm der Lösung 3 Tropfen konzentrierter $H_2SO_4$ hinzugesetzt, um das Ausfallen von Braunstein zu verhindern. (Es empfiehlt sich nicht, den Niederschlag mit konzentrierterer $H_2SO_4$ zu lösen, da sich leicht ein unlöslicher Rückstand auf dem Filter bildet. Ebensowenig darf der Niederschlag lange der Luft

ausgesetzt bleiben; man sollte womöglich vor dem vollständigen Ablaufen des letzten Waschwassers mit dem Auftropfen von $H_2SO_4$ beginnen.)

Die Titration wurde bei 60—70° C mit ca. $^1/_{10}$ n $KMnO_4$ ausgeführt. Sie wurde als beendigt angesehen, wenn ein Tropfen Permanganatlösung nach 1 Minute noch sichtbare Rosafärbung ergab. Die so erhaltenen Werte zeigten sehr gute Übereinstimmung.

Um die Vorstellung der Gerbstoffmengen zu erleichtern, habe ich die Werte nicht in ccm n/10-$KMnO_4$ angegeben. Vielmehr habe ich die $KMnO_4$-Lösung auf eine bekannte Lösung reinen Tannins (Merck, pro analysi) eingestellt und die Werte auf mg Tannin umgerechnet. Es wäre natürlich richtiger gewesen, die Werte in mg Eichelgerbstoff auszudrücken. Da mir aber kein Präparat von Eichelgerbstoff zur Verfügung stand, wählte ich ein möglichst reines leicht erhältliches Gerbstoffpräparat.

## 3. Durchführung der Versuche.

Nach der ausführlichen Besprechung der Methode soll nun noch kurz der Gang der Versuche wiedergegeben werden.

### a) Zerkleinerung und Trocknung des Materials.

Die getrockneten Eicheln von *Quercus pedunculata*, die zur Ausarbeitung der Methode dienten, wurden mehrmals durch eine Fleischhackmaschine getrieben und durch ein feines Sieb gesiebt. Das feine Pulver wurde für die Extraktionen verwendet.

Die frischen Eicheln, in unserem Falle *Quercus ballota*, werden sorgfältig geschält und von der Samenhaut befreit; dann werden sie mit einem rostfreien Messer in feine Scheibchen zerschnitten, die sofort in eine Porzellanschale mit 90proz. Alkohol gebracht werden. Auf dem Wasserbad wird der Alkohol unter ständigem Umrühren verdampft, und darauf werden die trockenen Späne in einer Reibschale zerrieben. Um einen Materialverlust zu vermeiden, wird die Reibschale mit einem steifen Pinsel ausgebürstet. Das Pulver kann bis zur Extraktion in einem Wägegläschen im Exsikkator aufbewahrt werden, ohne daß es sich dabei bräunt. Vor der Extraktion wird das Pulver im elektrischen Ofen bei 70° C während 12 Stunden getrocknet und dann gewogen.

Keimlinge werden zerschnitten und vor dem Trocknen in der Porzellanschale und in wenig Alkohol mit einem Glaspistill sorgfältig zerquetscht.

### b) Vorextraktion und Extraktion.

Die Nutschen werden am Tage vor der Extraktion vorbereitet. Auf den durchlöcherten Boden wird ein Stück glatten Filtrierpapiers gelegt. Über diesem wird in Wasser aufgeschwemmter Asbest angesaugt, und darüber eine Schicht von mit Wasser angerührtem Talkumpulver gebreitet. Die Nutschen werden darauf mit destilliertem Wasser nachgewaschen und während der Nacht im Trockenofen getrocknet.

Das aus den Kotyledonen gewonnene feine Pulver kann zur Extraktion ohne weiteres auf der Nutsche ausgebreitet werden. Anders verhält es sich mit den Keimlingen; die unregelmäßigen Fasern und Blattstückchen müssen mit einer Schicht Talkum bedeckt werden, damit das Extraktionsmittel besser aus dem Material herausgesaugt werden kann.

Der zur Vorextraktion benötigte wasserfreie Äther wird über geglühtem $CuSO_4$ aufbewahrt. Mit einer Pipette bringt man je 20 ccm Äther auf die Nutschen, läßt 10 Min. stehen und saugt dann ab. Ist viel Harz vorhanden, so müssen die ersten Portionen rascher abgesaugt werden, damit das Talkum nicht durch das Harz verklebt wird. Die Extraktion wird so lange fortgesetzt, bis der Äther farblos abläuft. In den vorliegenden Versuchen, die mit ungefähr gleichen Mengen Eichelpulver ausgeführt worden sind, wurde immer mit 6 Portionen, also mit 120 ccm Äther extrahiert. Diese Menge genügte in allen Fällen. Der Ätherextrakt wurde jedesmal mit $FeCl_3$ auf das Vorhandensein von Gallussäure oder Gerbstoff geprüft.

Vor Beginn der Extraktion wurden die Nutschen im Luftstrom vom Äther befreit.

Die Aceton-Wassermischungen wurden nach Landolt-Börnstein (Physikalisch-Chemische Tabellen, Springer 1905, S. 128) mit Hilfe einer Mohrschen Wage hergestellt. Die volumetrische Herstellung ist für diesen Zweck nicht genau genug, da der Wassergehalt des käuflichen Acetons nicht immer derselbe ist.

Das 40proz. Aceton wurde ebenfalls in Portionen von 20 ccm auf die Nutsche gebracht. Die ersten 3 Portionen werden im Laufe von 15 Min. durchgesaugt und zwar so, daß die Nutsche nie ganz

trocken liegt. Die übrigen Portionen werden dann in Abständen von 15, später von 20 Min. auf die Nutsche gebracht.

Bei den Vorversuchen (Ausarbeitung der Extraktionsmethode) wurden Vorextraktion und Extraktion mit 300 ccm Aceton an einem Tage ausgeführt. Die letzte Portion Aceton wurde über Nacht stehen gelassen, und am andern Tage wurde noch mit 60 ccm nachextrahiert.

Bei den eigentlichen physiologischen Versuchen wurde das Material mit 360 ccm 40proz. Aceton extrahiert, dann im Ofen rasch getrocknet und am folgenden Tage nochmals mit 120 ccm Aceton extrahiert (s. S. 285).

Keimlinge wurden nach Extraktion mit 240 ccm Aceton samt dem umgebenden Talkum in einer kleinen Reibschale gut zerrieben, daraufhin noch mit 60 ccm Aceton extrahiert, getrocknet usw.

Der Extrakt muß möglichst bald verarbeitet werden.

In Berücksichtigung der bei der Nachprüfung der Extraktion im Soxhlet-Apparat erhaltenen Resultate (s. S. 290 ff.) beabsichtige ich in späteren Versuchen noch eine Nachextraktion des Materials im Soxhlet-Apparat auszuführen, um die letzten Reste des Gerbstoffs zu extrahieren.

### c) Fällung und Titration.

Die Zinkacetatlösung, die zur Fällung der Gerbstoffe dienen sollte, wurde nach den Angaben von Malvezin folgendermaßen zubereitet: 10 g ZnO werden in der eben erforderlichen Menge verdünnter Essigsäure gelöst. Dazu wird so viel $NH_4OH$ zugesetzt, bis der zuerst entstehende Niederschlag wieder verschwindet. Die Lösung wird mit Aqua dest. auf einen Liter aufgefüllt.

Das acetonhaltige Gerbstoffextrakt wird je nach der Konzentration mit mehr oder weniger Zinkacetatlösung versetzt und leicht erwärmt. Wenn sich der Niederschlag in großen Flocken abscheidet, wird filtriert und mehrmals mit lauwarmem Wasser nachgewaschen.

Bevor das letzte Waschwasser ganz abgelaufen ist, beginnt man mit der Lösung des Niederschlages durch Auftropfenlassen von 2,5proz. Schwefelsäure. Läßt sich der Niederschlag nicht vollständig lösen, so muß mit heißer $H_2SO_4$ nachgewaschen werden. Das Lösen des Niederschlags muß besonders sorgfältig ausgeführt werden, weil dabei die größten Verluste an Gerbstoff entstehen

können. Die Lösung des Niederschlags wird auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt, und davon werden aliquote Teile titriert.

Vor der Titration werden auf je 20 ccm der Lösung drei Tropfen konzentrierter $H_2SO_4$ zugegeben. Die Titration wird nach Malvezin mit ca. $^1/_{10}$ n $KMnO_4$ zwischen 60° und 70° C ausgeführt. Zu diesem Zweck wird das Titrationsgefäß in einem Wasserbad erwärmt, dessen Temperatur auf ca. 70° konstant gehalten wird. Die Permanganatlösung wird anfangs rasch, dann in immer kleiner werdenden Portionen zugegeben. Das Titrationsgefäß wird jeweils bis zum Eintreten der Entfärbung im Wasserbad geschüttelt. Die Titration ist beendigt, wenn die durch einen Tropfen Permanganatlösung hervorgerufene Färbung nach einer Minute gerade noch sichtbar ist.

Die $KMnO_4$-Lösung wurde auf eine bekannte, ca. $^1/_{10}$ proz. Tanninlösung (Tannin pro analysi Merck-Darmstadt) eingestellt, die jedesmal frisch bereitet wurde. Die bei den Titrationen erhaltenen Werte wurden in mg Tannin umgerechnet.

## Abschnitt II.

## Über den Zustand der Gerbstoffe in den Zellen.

### 1. Beweise für das Vorhandensein einer Adsorptionsverbindung der Gerbstoffe in den Eicheln.

Wie wir bei der Besprechung der Extraktionsmethode der Gerbstoffe gesehen haben, will Michel-Durand in der Tatsache, daß der Gerbstoff durch Aceton aus frischem Material nur unvollständig extrahiert wird, einen Beweis dafür erblicken, daß der Gerbstoff in den von ihm behandelten Pflanzen nicht frei, sondern in einer Adsorptionsverbindung vorliege. Diese Ansicht ist ohne Zweifel berechtigt. Man kann sich sehr wohl vorstellen, daß die weniger vollständige Extraktion der Gerbstoffe durch Aceton auf die Koagulation von Adsorbentien zurückzuführen wäre, die von Lloyd als pektin- oder zelluloseartig beschrieben worden sind. Umgekehrt darf aber aus der vollkommenen Extraktion der Gerbstoffe mit Aceton aus wasserhaltigem Material (*Spirogyra*) nicht auf das Fehlen eines Adsorbens geschlossen werden. Wir haben nämlich feststellen können, daß, obwohl Lloyd für eine *Quercus*-Art *(Quercus laurifolia)* das Vorhandensein einer Adsorptionsverbindung

nachgewiesen hat, bei Eicheln von *Quercus pedunculata* gerade durch Aceton + Wasser am meisten Gerbstoff extrahiert wird.

Es erhebt sich nun die Frage, ob wir es in den Eicheln von *Quercus pedunculata* tatsächlich auch mit einer Adsorptionsverbindung der Gerbstoffe zu tun haben, und ob die erhaltene Extraktionskurve für solche Verbindungen eventuell charakteristisch ist.

#### a) Extraktionsverhältnisse bei anderen gerbstoffhaltigen Pflanzenteilen.

Da es mir nicht gelingen wollte, nach Lloyds Angaben in den Kotyledonen der Eicheln eine Adsorptionsverbindung der Gerbstoffe mikroskopisch festzustellen, kam ich auf den Gedanken, die Extraktionskurve für ein Objekt zu bestimmen, bei dem sich eine solche Verbindung leicht nachweisen läßt. Wenn diese Extraktionskurve den gleichen Verlauf zeigen sollte wie die Extraktionskurve der Eicheln (Maximum bei ca. 40proz. Aceton), so wäre damit wahrscheinlich gemacht, daß die Extraktionsverhältnisse tatsächlich durch das Vorhandensein eines Adsorbens bedingt sind, somit auch für die Eicheln ein solches Adsorbens angenommen werden müsse. Es ließ sich sogar vermuten, daß in diesem Falle, wenn nämlich die Adsorptionsverbindung im Gegensatz zu derjenigen der Eicheln an ihrer besonderen Konsistenz (gelatinös oder dickflüssig) zu erkennen wäre, die Extraktionskurve ein noch ausgeprägteres Maximum zeigen müßte, indem die Verbindung in Wasser (Zellsaft) im Verhältnis zu 40proz. Aceton schwerer löslich wäre.

Als ein geeignetes Versuchsobjekt wurden zu diesen Extraktionen Bananenschalen gewählt. Lloyd (1922) hat das Vorkommen und die Entwicklung der Gerbstoffzellen bei Bananen genau untersucht. Im Fruchtfleisch und in der Schale der Bananen findet man leicht diese verhältnismäßig großen und stark lichtbrechenden Zellen, die in Strängen angeordnet die Gefäßbündel begleiten. Sticht man eine solche Zelle an, so tritt der sirupartige Zellinhalt in das umgebende Wasser aus und löst sich darin unter Schlierenbildung auf. In ca. 50proz. Aceton geht die Lösung sichtlich rascher vor sich. Beim Absterben der Zelle oder bei Einwirkung verschiedener Gerbstoffreagenzien erstarrt der Zellinhalt zu einer gelatinösen Masse.

Vor der Durchführung der Extraktionen wurden die Bananenschalen auf dieselbe Art zerkleinert und getrocknet, wie auf S. 282 für die Eicheln beschrieben worden ist. Zu den Extraktionen wurde Wasser, 40proz. und 70proz. Aceton angewendet. An 100proz.

Aceton wurde nämlich auch in diesem Falle kein Gerbstoff abgegeben. Es ist natürlich nicht gesagt, daß auch aus Bananenschalen gerade mit 40proz. Aceton am meisten Gerbstoff erhalten werden kann. Für den vorliegenden Versuch war aber die Feststellung der optimalen Acetonkonzentration von geringer Bedeutung, da es nicht auf eine vollständige Extraktion ankam. Übrigens lassen die erhaltenen Resultate vermuten, daß das Maximum an Gerbstoff, das man bei Zimmertemperatur erhalten kann, tatsächlich mit 40proz. Aceton erreicht wird.

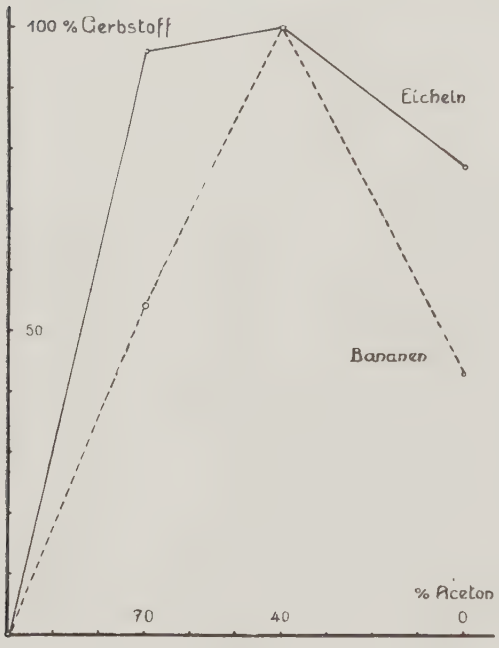



Fig. 2.

Extraktionskurven von Eicheln und Bananenschalen.

In Fig. 2 sind die für Bananenschalen gefundenen Werte mit den bei Eicheln erhaltenen verglichen. Dabei wurden nicht die absoluten Zahlen aufgetragen, sondern die Werte in Prozenten der bei der Extraktion mit 40proz. Aceton erhaltenen Menge ausgedrückt. Diese Darstellungsart wurde deshalb gewählt, weil nur so der Unterschied zwischen der mit $H_2O$ und mit 40proz. Aceton extrahierten Menge im richtigen Verhältnis zum Ausdruck kommt. Die Annahme, daß mit 40proz. Aceton wirklich 100 % der vorhandenen Gerbstoffmenge extrahiert wird, trifft für Eichelpulver, wie auf S. 290 gezeigt wurde, annähernd zu. Wir werden aber sehen, daß dies bei Bananenschalen nicht der Fall ist.

Die Extraktionskurve der Bananenschalen zeigt im wesentlichen denselben Verlauf wie diejenige der Eicheln; wir können also demzufolge vermuten, daß wir es auch bei den Eicheln mit einer Adsorptionsverbindung des Gerbstoffs zu tun haben.

Ist dies wirklich der Fall, so stehen die in Fig. 2 dargestellten Resultate mit den Ergebnissen der mikroskopischen Untersuchung

vollkommen im Einklang: Die in den Eicheln allfällig vorhandene Adsorptionsverbindung, die aber mikroskopisch nicht nachgewiesen werden kann, ist in Wasser verhältnismäßig viel leichter löslich als die „festere" Adsorptionsverbindung des Bananengerbstoffs.

Um den Vergleich mit den Eicheln vollständiger zu gestalten, wurde noch eine Extraktion von Bananenschalen im Soxhlet-Apparat durchgeführt. Es zeigte sich dabei, daß der Gerbstoff der Bananen durch eine Aceton + Wasser-Mischung (40proz. Aceton) in der Kälte nur sehr unvollständig extrahiert wird: wurde doch mit Wasser im Soxhlet-Apparat (bei 100° C) eine ungefähr 3mal größere Menge erhalten.

Dieser Versuch zeigt erstens, daß sich die Extraktion auf der Nutsche mit 40proz. Aceton nicht für jedes Material am besten eignet, und zweitens, daß es nicht das Vorhandensein einer Adsorptionsverbindung ist, das an der geringeren Löslichkeit des Eichelgerbstoffs in heißem Wasser schuld ist, sondern einzig und allein die größere Empfindlichkeit des Eichelgerbstoffs gegen Hitze. Wenn also für einen Gerbstoff kein Lösungsmittel gefunden werden kann, mit dem er sich auch bei Zimmertemperatur vollständig extrahieren läßt, so ist zur annähernd quantitativen Bestimmung die Extraktion im Soxhlet-Apparat, wie sie Michel-Durand empfiehlt, vorläufig die einzig anwendbare.

Alle diese Versuche haben den großen Fehler, daß sie mit getrocknetem, abgetötetem Material ausgeführt wurden. Man könnte darum annehmen, der Gerbstoff sei erst beim Trocknen des Materials nach dessen Behandlung mit Alkohol an Zellwände und Plasma adsorbiert worden.

Für die Ausarbeitung der Extraktionsmethode ließ sich aber die Anwendung von getrocknetem Material nicht umgehen, weil sich die Versuche über eine lange Zeit erstreckten, und doch einheitliches Material erforderlich war. Für die physiologischen Versuche war die Trocknung deshalb notwendig, weil wegen Materialmangels die Trockengewichtsbestimmungen immer an dem später für die Extraktion verwendeten Material vorgenommen werden mußten. Um nun nachzuprüfen, ob die Verwendung von getrocknetem Material den Wert der Extraktionskurve irgendwie beeinträchtige, wurde versucht, die Extraktion mit verschiedenen Aceton-Wasser-Mischungen an frischen Schnitten auszuführen. Dieser Versuch muß an Schnitten ausgeführt werden, weil hier der Wassergehalt des Materials im Verhältnis zur Menge des Extraktionsmittels nur eine untergeordnete Rolle spielt.

### b) Extraktion der Gerbstoffe aus frischen Schnitten.

Um die Extraktion der Gerbstoffe aus frischen Schnitten zu studieren, wurden mehrere mit dem Rasiermesser hergestellte Schnitte durch die Wurzeln junger Eichenkeimlinge in Fläschchen mit Wasser, mit 40proz. und mit 100proz. Aceton gebracht. Die Schnitte wurden 3 Tage in den Fläschchen gelassen, und die Flüssigkeit jeden Tag erneuert. Schnitte durch Wurzeln wurden deshalb gewählt, weil im Mark der Wurzeln das mikroskopische Bild der einzelnen Zellen weitgehend mit demjenigen des Kotyledonengewebes übereinstimmt. Es ist aber bedeutend leichter, gleichmäßig durchsichtige Schnitte durch Wurzeln als durch Kotyledonen zu erhalten.

Behandelt man einen solchen frisch hergestellten Schnitt mit ätherischer $FeCl_3$-Lösung, so erhält man folgendes Bild: Die Gerbstoffreaktion tritt besonders stark in der Rinde und in den Markstrahlen auf. Hier findet man kleine tiefblau gefärbte Zellen. Die Färbung ist aber sehr deutlich auf den inneren Teil der Zelle beschränkt. Um diese blaue Mittelpartie lagern sich zahlreiche farblose Stärkekörner, so daß bei hoher Einstellung der Mikrometerschraube von dem mittleren gerbstoffhaltigen Teil nur ein blaues Netzwerk auf weißem Grunde zu sehen ist. (Die Jodreaktion auf Stärke gibt genau das entgegengesetzte Bild.) Die Zellen des Markes zeigen dasselbe Verhalten; nur ist in diesen großen saftreichen Zellen die Gerbstoffreaktion etwas schwächer als in den Markstrahlen und in der Rinde.

Die mit den vorhin erwähnten Lösungsmitteln vorbehandelten Schnitte ergaben mit ätherischer $FeCl_3$-Lösung folgende Resultate[1]).

Die in Aceton (100 %) aufbewahrten Schnitte zeigen eine ebenso starke Gerbstoffreaktion wie die direkt nach dem Schneiden mit $FeCl_3$-Lösung behandelten. Nur ist hier die Färbung nicht so gut lokalisiert, weil sich der Gerbstoff wegen des anfänglichen Wassergehalts der Schnitte im eindringenden Aceton etwas lösen kann. Diese Lösung dringt dann in das Plasma und die Zellwände ein, so daß sich der ganze Schnitt bei $FeCl_3$-Zusatz diffus blau färbt.

1) Obwohl die Reaktionen im mikroskopischen Bild sehr klar zu sehen sind, lassen sie sich photographisch nur undeutlich wiedergeben. Darum wurde von der Reproduktion der Photographien abgesehen, um so mehr als diese Versuche leicht wiederholt werden können.

Im 100proz. Aceton, mit dem die Schnitte behandelt worden waren, kann jedoch kein Gerbstoff nachgewiesen werden.

Die mit 40proz. Aceton behandelten Schnitte gaben nach 3 Tagen überhaupt keine Gerbstoffreaktion mehr. Das 40proz. Aceton, das am ersten Tage entfernt wurde, war deutlich gelb gefärbt und gab auch eine positive Gerbstoffreaktion.

Auch im Wasser hatte eine ziemlich starke Gerbstoffextraktion stattgefunden; aber in einzelnen Zellen, besonders der Rinde, schien der Gerbstoff gar nicht gelöst worden zu sein. Außerdem zeigten die Schnitte eine helle diffuse Blaufärbung, ein Zeichen dafür, daß im Wasser etwas Gerbstoff an Plasma und Zellwände adsorbiert bleibt.

Dieser Versuch beweist, daß die eigentümlichen Extraktionsverhältnisse des Eichelgerbstoffs nicht durch die Vorbehandlung bedingt sind.

Leider ließ sich bei Bananen keine entsprechende Untersuchung durchführen, da die relativ schlechte Löslichkeit des Bananengerbstoffs in 40proz. Aceton es nicht erlaubt, mit Hilfe der $FeCl_3$-Reaktion im Gerbstoffgehalt der Zellen nach Extraktion mit Wasser und mit 40proz. Aceton einen Unterschied festzustellen.

---

Die auf S. 299 ff. besprochenen Versuche über die Extraktion des Gerbstoffs aus Bananenschalen, bei denen sich mikroskopisch eine Adsorptionsverbindung des Gerbstoffs nachweisen läßt, haben es wahrscheinlich gemacht, daß auch in den Eicheln eine solche Adsorptionsverbindung vorhanden sei. Ein Beweis für diese Ansicht konnte jedoch damit nicht erbracht werden. Dies ist erst möglich, wenn es gelingt, für eine künstlich hergestellte Adsorptionsverbindung eines Gerbstoffs dieselben Lösungsverhältnisse festzustellen, wie sie den für Eicheln und Bananen gefundenen Extraktionskurven entsprechen.

### c) Modellversuche über die Löslichkeitsverhältnisse von Adsorptionsverbindungen des Tannins.

Zur Untersuchung der Löslichkeitsverhältnisse von Adsorptionsverbindungen des Tannins wurde zuerst ein Gelatine-Tannin-Niederschlag verwendet, der ein typisches Beispiel einer solchen Verbindung darstellt. Gleiche Mengen des getrockneten und fein zerriebenen Niederschlags wurden auf Filtern mit je 20 ccm der zu untersuchenden Lösungsmittel ausgewaschen. Die Filtrate wurden mit Ferrichloridlösung auf ihren Gerbstoffgehalt geprüft. Die

Resultate, die auf Tabelle 5 wiedergegeben sind, waren so eindeutig, daß von der Ausführung quantitativer Bestimmungen abgesehen werden konnte.

Tabelle 5.

| Adsorptionsverbindung von Tannin mit | Löslichkeit der Verbindungen in | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 100 % Aceton | 70 % Aceton | 40 % Aceton | $H_2O$ |
| Gelatine . . . . . | 0 | +++ | ++++ | + (gering) |
| Agar . . . . . | 0 | – | ++++ | ++ |
| Gummi arab. . . . . | 0 | – | ++++ | +++ |

Die Extraktionskurve, oder besser gesagt, die Lösungskurve der Gelatine-Tannin-Verbindung würde demnach genau derjenigen des Eichel- und des Bananen-Gerbstoffs entsprechen.

Die Kurve weist die charakteristischen Punkte auf: Sie schneidet die x-Achse bei 100proz. Aceton, hat bei ca. 40proz. ein Maximum und fällt gegen 0-Prozent stark ab. Die Löslichkeit in Wasser ist hier aber verhältnismäßig viel geringer als bei Eichel- und Bananengerbstoff, bei denen es nicht gelingt, mit Hilfe der $FeCl_3$-Reaktion zwischen den Extrakten mit Wasser und mit 40proz. Aceton einen Unterschied im Gerbstoffgehalt festzustellen.

Die Biuretprobe auf Gelatine, die in allen tanninhaltigen Filtraten positiv ausfällt, zeigt uns, daß wir es mit einer Lösung der ganzen Verbindung zu tun haben[1]). Entsprechend dieser Feststellung kann auch bei der Zusetzung einer acetonhaltigen Tanninlösung zu einer Gelatinelösung kein Niederschlag erhalten werden. Ebenso verschwindet ein in einer wässerigen Lösung fein verteilter Niederschlag beim Zusatz von Aceton sofort.

Da wir es nun nach den Angaben Lloyds bei den in der Zelle vorkommenden Gerbstoffadsorbentien nicht mit Eiweißstoffen, sondern mit Kohlehydraten zu tun haben, so lag es nahe, den eben beschriebenen Versuch auch mit einer solchen Verbindung zu wiederholen. Adsorptionsverbindungen von Kohlehydraten mit Gerbstoffen sind nur wenige bekannt. Für die Technik kommt hauptsächlich die Adsorption von Gerbstoffen an Baumwolle in

1) Daß dies auch für Eichel- und Bananenextrakte der Fall ist, beweist uns die Unlöslichkeit des Verdampfungsrückstandes der Extrakte in 100proz. Aceton. Das pektin- oder zelluloseartige Adsorbens ist also bei der Extraktion ebenfalls in Lösung gegangen.

Betracht. Diese Verbindung ist schon gegen Wasser sehr wenig beständig. Dabei handelt es sich aber um die Adsorption an ein festes Kohlehydrat, während in der Pflanze kolloid gelöste Kohlehydrate als Adsorbentien vorliegen. Ja, wir haben es in der Zelle sogar mit „in Lösung befindlichen Adsorptionsverbindungen" zu tun, also nicht mit Fällungen wie z. B. bei der Gelatine-Tannin-Verbindung. Es ist nun einerseits denkbar, daß der Zellsaft diesen Verbindungen gegenüber eine ähnliche lösende Wirkung hat wie eine Aceton-Wasser-Mischung, z. B. durch das Vorhandensein von gewissen Salzen, durch die ja auch die Fällung von Gelatine mit Tannin teilweise verhindert werden kann. Andererseits ist es auch möglich, daß Verbindungen von kolloid löslichen Kohlehydraten mit Gerbstoffen auch in reinem Wasser leicht löslich sind.

Zuerst wurde ein Versuch mit Agar durchgeführt. Rosenthaler (1914) gibt die Fällung mit Gerbstoffen als Reaktion auf Agar an. Es war also zu erwarten, daß dieses Kohlehydrat mit Tannin einen Niederschlag bilde. Es gelang jedoch nicht, eine richtige Fällung zu erhalten; nur in konzentrierten Lösungen (2proz. Agar und 1proz. Tannin) trat eine erhebliche Trübung auf. (Diese Trübung ist sicher teilweise den im Agar enthaltenen Eiweißstoffen zuzuschreiben.)

Das Verhalten der Verbindung gegenüber 100proz. Aceton konnte darum nicht anders untersucht werden, als daß die Mischung der beiden Lösungen (Agar und Tannin) eingedampft und der Rückstand mit Aceton behandelt wurde. Entsprechend den mit Gelatine-Tannin erhaltenen Resultaten konnte auch hier mit 100proz. Aceton kein Tannin extrahiert werden. Die Löslichkeit in 40proz. Aceton wurde durch Zugeben von ca. 40proz. Aceton zu der getrübten Lösung nachgewiesen; die Trübung verschwand sofort. Bei Zusatz einer gleichen Menge Wasser blieb die Trübung bestehen.

Derselbe Versuch wurde auch mit Gummi arabicum ausgeführt. Die Resultate waren dieselben; nur ist die Löslichkeit von Gummi-Tannin in reinem Wasser noch größer als diejenige von Agar-Tannin. Eine Trübung tritt erst bei Anwendung von 20proz. Gummi- und 10proz. Tanninlösung auf. Die trockene Verbindung ist in 100proz. Aceton vollkommen unlöslich.

Die eben besprochenen Modellversuche haben gezeigt, daß die Lösungsverhältnisse der Eichel- und Bananengerbstoffe mit denjenigen von künstlich hergestellten Adsorptionsverbindungen des Tannins mit Eiweißstoffen oder Kohlehydraten vollkommen über-

einstimmen. Hiermit scheint mir der Beweis erbracht, daß wir es bei den Eicheln (und Bananen) tatsächlich mit einer Adsorptionsverbindung der Gerbstoffe zu tun haben. Die Adsorptionsverbindung des Eichelgerbstoffs nähert sich durch ihre verhältnismäßig gute Löslichkeit in Wasser mehr dem Verhalten der Tannin-Kohlehydrat-Verbindungen als dem des Gelatine-Tannats. Diese Tatsache entspricht den Befunden Lloyds u. a. über die Natur der in den Zellen vorkommenden Gerbstoff-Adsorbentien.

## 2. Erklärungsmöglichkeiten für die Löslichkeitsverhältnisse der Adsorptionsverbindungen der Gerbstoffe.

Nachdem nun feststeht, daß die Extraktionskurven des Eichel- und des Bananengerbstoffs dadurch bedingt sind, daß diese Gerbstoffe in der Pflanze in einer Adsorptionsverbindung vorliegen, ist es auch von Interesse, sich auf Grund dieser Tatsache eine genauere Vorstellung von den Vorgängen bei der Lösung einer solchen Adsorptionsverbindung durch verschiedene Lösungsmittel (Aceton, Wasser) und deren Mischungen zu bilden. Für die Löslichkeitsverhältnisse der untersuchten Gerbstoffverbindungen scheint vor allem die Löslichkeit der beiden Komponenten der Verbindungen in den einzeln und gemischt angewandten Lösungsmitteln maßgebend zu sein. In reinem Wasser sind in allen Fällen beide Komponenten, einerseits der Gerbstoff, andererseits das Adsorbens (Gelatine, Agar, Gummi) kolloidal löslich. Wirken beide Komponenten in kolloidaler Lösung aufeinander ein, so fällen sie sich gegenseitig wenigstens teilweise aus. Die Ausfällung ist am vollständigsten zwischen Tannin und Gelatine, am unvollständigsten zwischen Tannin und Gummi arabicum. Auch bei der Fällung von Gelatine durch Tannin bleibt jedoch noch ein Anteil der beiden Komponenten gelöst.

Wie nun auf S. 304 erwähnt wurde, fällt ein Tannin-Gelatine-Niederschlag nur in einer wäßrigen, nicht aber in einer acetonhaltigen Lösung aus. Es scheint nämlich, daß die Gerbstoffe, die sich in Wasser als Kolloide oder Halbkolloide verhalten, in organischen Lösungsmitteln molekular löslich sind oder doch einen höheren Dispersitätsgrad aufweisen (Freudenberg, 1920, S. 25). Der eben erwähnte Versuch läßt uns darum vermuten, daß zur Bildung einer Adsorptionsverbindung kolloidal gelöster Gerbstoff erforderlich ist. Ein Lösungsmittel, in dem sich der Gerbstoff molekular löst,

muß darum zur Spaltung einer solchen Verbindung besonders wirksam sein.

In wasserfreiem Zustande kann jedoch das organische Lösungsmittel, wie die Versuche gezeigt haben, die Adsorptionsverbindung nicht angreifen. Erst wenn Wasser vorhanden ist, das eine Quellung und teilweise Lösung bewirkt und dadurch die Bindung zwischen den beiden Komponenten lockert (Verschiebung des Adsorptionsgleichgewichts, Lloyd, 1922), kann das Aceton der Verbindung Gerbstoff entziehen und dadurch bewirken, daß immer mehr von der Adsorptionsverbindung in Lösung geht.

Bei richtiger Zusammensetzung des Lösungsmittels muß schließlich, wie die vollständige Auflösung eines fein verteilten Gelatine-Tannin-Niederschlags beweist (S. 304), sowohl aller Gerbstoff als auch alles Adsorbens (Gelatine, Agar, Gummi) gelöst werden. (Wenn Trunkel [1910] aus Leimtannat mit Alkohol nur 97% des Gerbstoffs und nur 6% der Gelatine zu extrahieren vermochte, so ist dafür sehr wahrscheinlich der allzugeringe Wassergehalt des verwendeten Alkohols verantwortlich zu machen).

Kurz zusammenfassend könnte man die Löslichkeitsverhältnisse der Adsorptionsverbindungen von Gerbstoffen mit kolloid löslichen Kohlehydraten folgendermaßen charakterisieren:

Die Adsorptionsverbindungen der Gerbstoffe sind in Wasser quellbar und teilweise löslich, vollkommen unlöslich dagegen in wasserfreien organischen Lösungsmitteln (Aceton, Äther). Wasserhaltige organische Lösungsmittel (40 proz. Aceton) wirken am stärksten lösend. Diese Tatsache erklärt sich dadurch, daß das organische Lösungsmittel (Aceton) aus der im vorhandenen Wasser gequollenen oder gelösten Verbindung den Gerbstoff durch Veränderung seines kolloidalen Zustandes abspaltet und damit eine successive Lösung der ganzen Verbindung veranlaßt.

## 3. Eventuelle Bedeutung der Gerbstoffadsorbentien für die Pflanze.

Es ist klar, daß, nachdem einmal festgestellt worden war, daß die Gerbstoffe in den Pflanzen meistens in Verbindung mit einem Adsorbens vorkommen, die Frage auftauchen mußte, ob das Vorhandensein solcher Adsorbentien irgend eine Bedeutung für die Pflanze habe. Lloyd (1922) erwähnt z. B. die Möglichkeit, daß den Gerbstoffadsorbentien in der Zelle die Aufgabe zukommen

könnte, das Protoplasma vor der Fällung durch den Gerbstoff zu schützen. Gegen diese Annahme spricht aber die Tatsache, daß in manchen gerbstoffführenden Pflanzen oder Pflanzenteilen (*Spirogyra*, Eichengallen) kein Adsorbens nachgewiesen werden kann, und trotzdem keine Schädigung des Protoplasten eintritt. Nach Lloyd könnte man in diesen Fällen annehmen, daß eben die betreffenden Gerbstoffe dank ihrer besonderen chemischen Konstitution nicht giftig sind, mit anderen Worten, Eiweißstoffe nicht fällen. Diese Annahme ist aber nicht berechtigt. Van Wisselingh hat für *Spirogyra* gezeigt, daß nach Absterben und Zerreißen der Vakuolenwand infolge starker Plasmolyse der Gerbstoff mit dem umgebenden Plasma einen Niederschlag bildet. Bei der Plasmolyse entsteht nämlich zwischen Zellmembran und Vakuolenwand eine Plasmalösung, und nur in dieser fällt der Niederschlag aus, während die Vakuolenwand selbst zunächst nicht angegriffen wird. Die Unschädlichkeit des Gerbstoffs ist hier allem Anschein nach nicht auf seine Unfähigkeit zurückzuführen, gelöstes Eiweiß zu fällen, sondern darauf, daß die Vakuolenwand für ihn impermeabel ist.

Wir können wohl kaum annehmen, daß der Gerbstoff das lebende Plasma nur darum nicht fällen könne, weil es nicht in Lösung vorhanden sei. Wie sollten wir uns sonst erklären, daß viele lebende Organismen, z. B. Hefe, durch Tanninlösungen geschädigt werden? Hier dringt doch allem Anschein nach der Gerbstoff in die Zelle ein und inaktiviert oder tötet das Plasma durch Ausfällung.

Wir müssen darum vielleicht für diejenigen pflanzlichen Objekte, welche durch Tanninlösung nicht geschädigt werden, annehmen, daß bei ihnen, wie bei *Spirogyra*, der Gerbstoff nicht in den Protoplasten einzudringen vermag. Es ist ja möglich, daß z. B. bei den Pilzen, die Tannin als Kohlenstoffquelle benutzen können (*Penicillium* und *Aspergillus*-Arten), der Gerbstoff überhaupt nicht in die Zellen aufgenommen wird, sondern daß die Spaltung durch ausgeschiedene Fermente ausschließlich außerhalb der Zellen stattfindet, und erst die zusagenden Spaltungsprodukte (Glukose) vom Pilz aufgenommen werden. Es könnte aber auch sein, daß im Protoplasma dieser Pilze der Gerbstoff eventuell durch das Ferment (Tannase) sogleich gebunden und unschädlich gemacht würde.

Der Versuch van Wisselinghs mit *Spirogyra* weist aber darauf hin, daß wenigstens in diesem Fall die Permeabilität der Plasmagrenzschichten eine Rolle spielt. Die Vakuolenwand von

*Spirogyra* kann für Gerbstoff nicht durchlässig sein, da sonst die innere Schicht des Protoplasmas durch den eindringenden Gerbstoff geschädigt würde, wie das beim Zerreißen der Vakuolenwand der Fall ist.

Nun ist sowohl die Neubildung von Tannase, als auch die Organisation der Plasmagrenzschichten an den lebenden Zustand der Zelle gebunden; und das würde beides mit der Tatsache übereinstimmen, daß totes Pilzmycel durch Tannin gegerbt wird, und daß der Gerbstoff von *Spirogyra* nach dem Abtöten der Zelle das Protoplasma ausfällt.

Ebensogut wie sich nun die Protoplasten verschiedener Pflanzen gegen den von außen eindringenden Gerbstoff verschieden verhalten, indem die einen durch ihn geschädigt werden (Hefe), die anderen ihn dagegen sogar als Nahrungsquelle benützen können (viele Pilze), ebensogut könnte dies auch gegenüber dem in der Zelle vorhandenen Gerbstoff der Fall sein. So wäre es denkbar, daß bei manchen Pflanzen die Gerbstoffadsorbentien tatsächlich die Protoplasten vor dem Angriff des Gerbstoffs schützten.

Es wird kaum möglich sein, für diese Ansicht einen direkten Beweis zu erbringen; sollte es aber gelingen, in Modellversuchen tatsächlich eine Schutzwirkung kolloider Kohlehydrate festzustellen, so würde doch diese Anschauung an Wahrscheinlichkeit bedeutend gewinnen. Eine Schutzwirkung könnte hier auf zweierlei Arten zustande kommen: einerseits könnte das Adsorbens den Gerbstoff daran hindern, Eiweißstoffe aus Lösungen auszufällen; andererseits aber könnte der Gerbstoff in der Lösung mit einem kolloiden Kohlehydrat nur die Fähigkeit verloren haben, durch die semipermeable Plasmagrenzschicht hindurchzugehen. Die beiden Fälle schließen einander nicht aus; nur dürfte in dem Falle, daß eine Eiweißfällung auch mit der Lösung einer Tannin-Kohlehydrat-Verbindung gelänge, noch nicht der Schluß gezogen werden, daß das Adsorbens in der Zelle keine Schutzwirkung ausüben könne. Wie wir bei *Spirogyra* gesehen haben, braucht ja der Gerbstoff selbst nicht „ungiftig“ zu sein, wenn er nur nicht die Fähigkeit besitzt, durch die Vakuolenwand in das Protoplasma einzudringen.

Um die Frage zu beantworten, ob die Fällung von Eiweiß mit einem Gerbstoff durch ein kolloides Kohlehydrat verhindert werden kann, wurde der Einfluß von Gummi arabicum auf die Fällung von Albumin durch Tannin untersucht. Tabelle 6 (S. 310) gibt die erhaltenen Resultate wieder.

Tabelle 6.

| | Gehalt der Lösung in Prozenten an | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Albumin . . . . . | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| Tannin . . . . . | 0,0 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Gummi . . . . . | 0,0 | 0,0 | 1 | 2 | 3 |
| Grad der Trübung . . . | 1 | 7,7 | 6,2 | 6,2 | 10 |

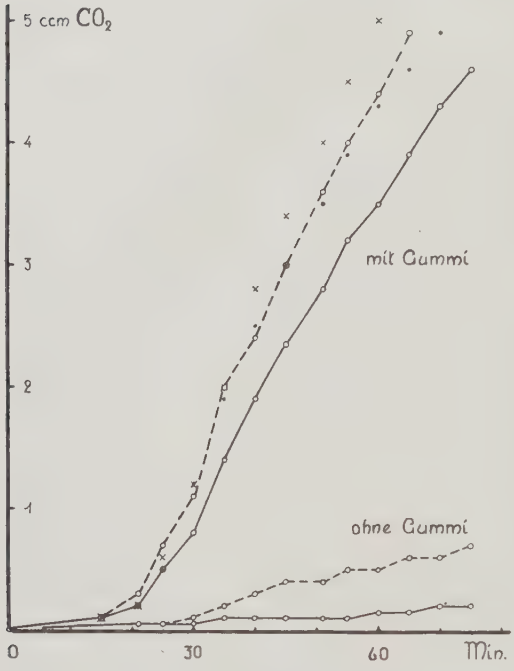



Fig. 3. Gärungskurven.

• • • = Kontrollversuch ohne Zusatz.
× × × = Kontrollversuch mit Zusatz von 1% Gummi.
- — — = Versuche mit Zusatz von 1% Tannin.
——— = Versuche mit Zusatz von 2% Tannin.

Die Trübungsintensitäten wurden im Nephelometer gemessen. Dabei wurde die Trübung einer 0,5proz. Albuminlösung als Ausgangspunkt (= 1) genommen.

Die gemessenen Unterschiede zwischen der Trübung einer mit Tannin versetzten Albuminlösung ohne und mit Zusatz von Gummi arabicum liegen bei der relativ hohen Intensität der beobachteten Trübungen innerhalb der Fehlergrenze der angewendeten Meßmethodik. Auf keinen Fall kann es sich hier, wie schon der letzte Wert zeigt, um eine nennenswerte Hemmung oder gar eine Aufhebung der Tanninwirkung durch den Gummi handeln. In einer Adsorptionsverbindung mit einem Kohlehydrat scheint also das Tannin die Fähigkeit, Eiweißstoffe aus einer Lösung auszufällen, nicht zu verlieren.

Wenn also eine Schutzwirkung solcher Adsorbentien gegenüber dem lebenden Plasma tatsächlich existiert, so kann sie nur dadurch zustande kommen, daß das Adsorbens den Gerbstoff daran hindert,

durch semipermeable Membranen hindurchzudiffundieren. Dieser Vorgang läßt sich am besten an der Wirkung von Tanninlösungen mit und ohne Gummizusatz auf lebende Zellen untersuchen.

Als ein tanninempfindliches Objekt wurde Hefe gewählt, die in ca. 2proz. Tanninlösung ihre Lebensfunktion (Gärung!) schon fast vollkommen einstellt. In der Gärung bietet sich auch ein leicht quantitativ bestimmbarer Lebensvorgang, dessen Intensität als Indikator für die Wirkung verschiedener Stoffe auf die Hefezelle dienen kann.

Die Wirkung von 2proz. und 1proz. Tanninlösung auf die Hefegärung und die Beeinflussung der Tanninwirkung durch Zusatz von 1% Gummi arabicum wurde untersucht. Tabelle 7 gibt eine solche Versuchsserie wieder, und in Fig. 3 sind die Kurven graphisch dargestellt.

Tabelle 7.

| Zusatz | Gärflüssigkeit ca. 2% Hefe + 3% Glukose | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. |
| Gummi arabicum | — | 1% | — | 1% | — | 1% |
| Tannin . . . | — | — | 1% | 1% | 2% | 2% |
| Zeit | ccm $CO_2$ | ccm $CO_2$ | ccm $CO_2$ | ccm $CO_2$ | ccm $CO_2$ | ccm $CO_2$ |
| $10^{05}$ . . . . | — | — | — | — | — | — |
| $10^{20}$ . . . . | 0,1 | 0,1 | 0 | 0,1 | 0 | 0,1 |
| $10^{26}$ . . . . | 0,2 | 0,2 | 0,05 | 0,3 | 0,05 | 0,2 |
| $10^{30}$ . . . . | 0,5 | 0,6 | 0,05 | 0,7 | 0,05 | 0,5 |
| $10^{35}$ . . . . | 1,2 | 1,2 | 0,1 | 1,1 | 0,05 | 0,8 |
| $10^{40}$ . . . . | 1,9 | 2,0 | 0,2 | 2,0 | 0,1 | 1,4 |
| $10^{45}$ . . . . | 2,5 | 2,8 | 0,3 | 2,4 | 0,1 | 1,9 |
| $10^{50}$ . . . . | 3,0 | 3,4 | 0,4 | 3,0 | 0,1 | 2,35 |
| $10^{56}$ . . . . | 3,5 | 4,0 | 0,4 | 3,6 | 0,1 | 2,8 |
| $11^{00}$ . . . . | 3,9 | 4,5 | 0,5 | 4,0 | 0,1 | 3,2 |
| $11^{05}$ . . . . | 4,3 | 5,0 | 0,5 | 4,4 | 0,15 | 3,5 |
| $11^{10}$ . . . . | 4,6 | — | 0,6 | 4,9 | 0,15 | 3,9 |
| $11^{15}$ . . . . | 4,9 | — | 0,6 | ca. 5,2 | 0,2 | 4,3 |
| $11^{20}$ . . . . | ca. 5,2 | — | 0,7 | — | 0,2 | 4,6 |

Bei Zusatz von 1% und 2% Tannin wird die Gärung gegenüber den Kontrollversuchen in reinem Wasser stark herabgesetzt. Ein Zusatz von 1proz. Gummi arabicum zu einem normalen Gärversuch hat dagegen, wie mehrere Vorversuche und auch der Kontrollversuch 2 gezeigt haben, keinen Einfluß auf die Gärungs-

intensität der Hefe, da der Gummi nicht vergoren wird. Wird aber 1% Gummi arabicum gleichzeitig mit 1% Tannin zu der Gärflüssigkeit hinzugefügt, so wird durch den Gummi die Wirkung des Tannins vollkommen aufgehoben (Tab. 7, Versuch 4). Die Differenzen gegenüber den Kontrollversuchen liegen innerhalb der Fehlergrenzen. Dagegen läßt sich die Wirkung von 2% Tannin durch 1% Gummi nicht ganz aufheben (Vers. 6), die Kurve verläuft hier etwas weniger steil als die normale. Der Unterschied gegenüber dem entsprechenden Versuch ohne Gummizusatz ist aber auch hier bedeutend.

Wenn nun auch der Gummi die Fällung von Eiweiß durch Tannin nicht hindern kann, so übt er doch der lebenden Zelle gegenüber eine Schutzwirkung aus. Wir können uns also vorstellen, daß eventuell die Protoplasten der Zellen, in denen ein solches Adsorbens mit dem Gerbstoff zusammen vorkommt, von Natur für den Gerbstoff empfindlich sind (durch ihre Unfähigkeit entweder unschädliche Komplexverbindungen zu bilden oder den Gerbstoff überhaupt nicht eindringen zu lassen), aber durch das Adsorbens vor dem Eindringen des Gerbstoffs geschützt werden. Die Schutzwirkung des Gummis kann z. B. darin bestehen, daß er durch Adsorption der Tanninteilchen eine Zunahme der Teilchengröße in der Lösung hervorruft und so das Eindringen des Gerbstoffs durch die Plasmamembran verhindert.

## Abschnitt III.

## Verhalten der Gerbstoffe während der Keimung.

### 1. Versuchsmaterial.

Die vorliegenden Untersuchungen sollten in der Hauptsache an Eicheln einer einheimischen *Quercus*-Art (*Quercus robur* = *Q. pedunculata*) ausgeführt werden, um das Verhalten der Gerbstoffe während der Keimung eingehend zu studieren. Zum Vergleich waren sodann Parallelversuche mit Eicheln von *Quercus ilex* vorgesehen, bei denen nach Brockmann-Jerosch ein Verbrauch des Gerbstoffs während der Keimung stattfinden soll.

Zur Ausarbeitung der Extraktionsmethode wurden Eicheln von *Quercus pedunculata* verwendet, die im Jahre 1926 gesammelt worden waren, das in der Umgebung Basels ein Mastjahr für Eicheln war. Als ich aber im Herbst 1927 mit den Keimungsversuchen

beginnen wollte, konnte ich keine keimfähigen Eicheln einheimischer Bäume erhalten. Die Versuche mußten deshalb von vornherein mit Samen von *Quercus ilex* var. *ballota* ausgeführt werden. Eine erste Sendung von Eicheln dieser Art erhielt ich Anfang Februar 1928 durch die Freundlichkeit von Herrn Prof. Killian in Algier. Leider hatten diese Eicheln ihre Keimfähigkeit größtenteils eingebüßt, so daß keine vergleichbaren Resultate erhalten werden konnten. An einem Teil dieser Eicheln konnten jedoch Geschmacksproben vor und nach der Keimung und nach Erhitzung ausgeführt werden. Ende Februar langte noch eine Sendung solcher Eicheln aus dem botanischen Garten in Lissabon an, in der sich eine genügende Anzahl keimfähiger Samen befand.

Die erste Anforderung, die an das zur Verwendung kommende Versuchsmaterial gestellt werden muß, ist die, daß die Samen von einem Baume stammen, so daß für alle ungefähr derselbe Gerbstoffgehalt angenommen werden kann. Da nämlich, wie Beobachtungen gezeigt haben, der Gerbstoffgehalt der Eicheln auch bei derselben Art von Baum zu Baum stark variiert, hat die Bestimmung eines Mittelwerts für nicht einheitliches Material überhaupt keinen Sinn. Es ist besser, die Versuche an wenigen, dafür aber gleichartigen Samen auszuführen.

Bei den Eicheln von *Quercus ballota*, die mir zur Verfügung standen, handelte es sich aber ohne Zweifel um Früchte verschiedener Bäume. Durch sorgfältige Auswahl nach Form, Größe und Farbe gelang es immerhin, 74 dem äußeren Ansehen nach gleichartige Eicheln auszuscheiden, die zu den Versuchen verwendet wurden. Es ist klar, daß bei dieser Auswahl nach äußeren Merkmalen auch Früchte mit unterlaufen konnten, die in ihren physiologischen Eigenschaften nicht mit der Hauptmenge übereinstimmten, also auch wahrscheinlich nicht denselben Ursprung hatten. Die Bestimmungen durften also nicht an Gruppen von Eicheln, sondern nur an einzelnen Individuen ausgeführt werden, damit aus der Reihe fallende Werte erkannt und, wenn nötig, auch ausgeschieden werden konnten. Da die einzelne Bestimmung aber ziemlich viel Zeit beansprucht, konnten nur wenige Versuche ausgeführt werden, die als vorläufige Stichproben zu betrachten sind.

## 2. Beobachtungen an keimenden Eicheln.

Bevor ich zur Besprechnng der quantitativen Bestimmungen übergehe, möchte ich einige Beobachtungen mitteilen, die an ungekeimten und gekeimten Eicheln gemacht wurden. Da nach der Angabe von Brockmann-Jerosch (1925) die Abnahme des Gerbstoffgehalts im Geschmack der Eicheln zum Ausdruck kommt, war es nämlich von Interesse, auch in dieser Beziehung einige Proben zu machen.

Die verschiedenen Sorten der Eicheln von *Quercus ballota*, die ich aus Algier und Portugal erhalten hatte, haben einen sehr ungleichen Geschmack. Die einen schmecken in rohem Zustande süß wie Kastanien und besitzen nur einen leicht bitteren Nachgeschmack, während andere ziemlich stark bitter schmecken, fast so bitter wie die zur Ausarbeitung der Extraktionsmethode verwendeten Eicheln von *Quercus pedunculata*, die ca. 7% Gerbstoff enthalten.

Röstet man die Eicheln von *Quercus ballota*, so verschwindet der bittere Geschmack. Wahrscheinlich handelt es sich hier um ein Unlöslichwerden der Gerbstoffe, wie es bei langem Erhitzen des Eichelpulvers mit Wasser im Soxhlet-Apparat festgestellt wurde (S. 288). Dasselbe wird wohl auch beim Kochen der Eicheln der Fall sein. Wir sehen also, daß die Hitzeempfindlichkeit der Eichelgerbstoffe für die Verwendung der Eicheln als Nahrungsmittel von großer Bedeutung ist. Nun besteht nach Brockmann (1925, S. 800) aber noch die Möglichkeit, daß bei der Keimung der Gerbstoffgehalt abnimmt, und dadurch der Geschmack der Eicheln schon in rohem Zustande süßer wird. Dann wird es noch leichter sein, die noch vorhandene Gerbstoffmenge beim Kochen oder Rösten restlos zu zerstören. Geschmacksproben an keimenden Eicheln in frischem Zustande ergaben aber gerade das gegenteilige Resultat. Der Geschmack ist deutlich bitterer geworden, und zwar kann man feststellen, daß das dem Würzelchen zugewandte Ende, in dem die Quellung schon einen höheren Grad erreicht hat, bitterer schmeckt als das entgegengesetzte Ende. Läßt man die Kotyledonen wieder etwas eintrocknen, so verschwindet auch wieder der bittere Geschmack.

Während das Bittererwerden der Eicheln beim Ankeimen auf eine Zunahme des Gerbstoffs hinzuweisen scheint, spricht das Zurückgehen dieser Erscheinung beim bloßen Eintrocknen der

Kotyledonen gegen eine solche Annahme. Nach Lloyd läßt sich vielmehr dieser Vorgang mit einer Verschiebung des Adsorptionsgleichgewichts bei der Quellung erklären. Diese Vorstellung schließt eine Abnahme der Gerbstoffmenge noch nicht aus. Wie die quantitativen Bestimmungen zeigen werden, findet auch bei der Keimung eine gewisse Abnahme des absoluten Gerbstoffgehalts der Kotyledonen statt. Diese Abnahme kommt erst nach längerer Keimungsdauer zum Ausdruck, der Geschmack der Eicheln ist aber auch dann noch (nach ca. 6 Wochen) stark bitter.

Wie sollen wir uns nun aber die Angabe von Brockmann-Jerosch über das Süßwerden der Eicheln bei der Keimung erklären? Es wäre denkbar, daß es bestimmte gerbstoffreiche Sorten von *Quercus ilex* gäbe, bei denen tatsächlich im Laufe der Keimung eine so starke Abnahme der Gerbstoffe stattfände, daß auch der Geschmack der rohen Eicheln süßer würde. Andererseits besteht die Möglichkeit, daß bei der Keimung infolge irgendwelcher chemischer Veränderungen die Hitzeempfindlichkeit der Gerbstoffe noch gesteigert und ihre Zerstörung bei der Zubereitung der Speisen dadurch erleichtert würde. Schließlich kann auch eine Erhöhung des Zuckergehalts bei der Keimung den Geschmack der Eicheln günstig beeinflussen. Selbstverständlich kämen aber bei den zwei letztgenannten Erklärungsmöglichkeiten für die Beurteilung des Geschmacks nur gekochte oder gebratene Eicheln in Betracht. Für die erste Erklärung (Abnahme des Gerbstoffs bei der Keimung) fehlen uns vorläufig alle Stützen. Zwar soll eine Abnahme der Gerbstoffe (Gesamtgerbstoffmenge?) bei der Keimung von *Quercus ballota* durch portugiesische Autoren festgestellt worden sein, doch ist es mir bis jetzt nicht gelungen, die betreffenden Arbeiten zu erhalten. Solange keine näheren Angaben über Keimungsdauer, analysierte Teile (Kotyledonen oder ganze Keimlinge?), Extraktions- und Bestimmungsmethode vorliegen, ist es unmöglich, sich über diese Angaben irgend ein Urteil zu bilden.

Was die beiden letzten Erklärungsmöglichkeiten (Steigerung der Hitzeempfindlichkeit, Erhöhung des Zuckergehalts) anbetrifft, so scheinen sie vorläufig größere Berechtigung zu haben. Leider habe ich es unterlassen, die gekeimten Eicheln auch in dieser Richtung zu untersuchen, da ich diesen Feststellungen anfangs nur geringe Bedeutung beimaß. Nachdem aber die quantitativen Bestimmungen gezeigt hatten, daß der Gerbstoffgehalt der Kotyledonen bei der Keimung nicht in dem Maße abnimmt, daß dadurch

der Geschmack der frischen Eicheln beeinflußt würde, gewann natürlich die Frage ein größeres Interesse, auf welche Weise nun der Geschmack der Eicheln nach der Zubereitung durch die Keimung beeinflußt werden könne.

## 3. Quantitative Bestimmungen der Gerbstoffe während der Keimung.

### a) Versuchsanordnung.

Um die Frage zu entscheiden, ob die in den Eicheln enthaltenen Gerbstoffe bei der Keimung verbraucht werden, also mit anderen Worten in diesem speziellen Falle als Reservestoffe anzusehen sind, hätte es genügt, den Gerbstoffgehalt der Eicheln vor und nach der Keimung zu bestimmen. Da aber außerdem die Frage von Interesse war, ob eventuell Lichtmangel einen stärkeren Verbrauch der Gerbstoffe zur Folge habe, wurden auch Bestimmungen an im Dunkeln gekeimten Eicheln ausgeführt. Da auch in diesem Falle keine Abnahme der Gerbstoffe festgestellt werden konnte und die Vermutung nahe lag, daß die Gerbstoffe, auch wenn sie tatsächlich verbraucht würden, aus den Reservestoffen der Kotyledonen immer neu gebildet und den Keimlingen zugeführt würden, wurde noch versucht, durch Abschneiden der Kotyledonen die Keimlinge zum Verbrauch ihrer Gerbstoffreserven zu veranlassen. Dieser Versuch gelang jedoch nicht, da die Keimlinge sehr bald braun wurden und ihre Blätter abwarfen.

Demnach wurden folgende Bestimmungen ausgeführt:

a) an ungekeimten Eicheln,
b) an gekeimten Eicheln, nur die Wurzeln entwickelt: 15 bis 25 cm lang,
c) an im Licht gekeimten Eicheln, } Keimlinge mit
d) an im Dunkeln gekeimten Eicheln, } 6—10 Blättern.

Bei Versuch b) wurden die Kotyledonen mitsamt den Wurzeln analysiert, da hier noch keine Neubildung von Gerbstoff durch die Assimilation in Betracht kommt. Bei c) und d) wurden Kotyledonen und Keimlinge gesondert analysiert, um einen eventuellen Einfluß der Assimilation feststellen zu können. Eine Trennung von ober- und unterirdischen Teilen der Keimlinge erschien überflüssig, da die bei der Assimilation gebildeten Substanzen auch in die Wurzel abgeleitet werden können.

Die Eicheln wurden in Kisten mit feuchten Sägespänen zum Teil unter Dunkelsturz im Gewächshaus zum Keimen gebracht; für die einzelnen Versuche wurden möglichst gleichartig entwickelte Keimlinge ausgewählt.

### b) Bezugsgrößen.

Die wichtigste Frage bei der Ausführung der Bestimmungen ist wohl diejenige nach der Einheit, auf die der Gerbstoffgehalt berechnet werden soll.

Das Trockengewicht, das in den meisten Fällen als Bezugsgröße gewählt wird, nimmt im Laufe der Keimung so stark ab, daß bei der Berechnung leicht eine Zunahme eines bestimmten Stoffes vorgetäuscht werden kann, auch wenn die Menge des Stoffes konstant geblieben ist oder sogar etwas abgenommen hat. Das Frischgewicht dagegen nimmt zu, und zwar in noch viel stärkerem Maße, als das Trockengewicht abnimmt. Es könnte darum am besten erscheinen, den absoluten Gerbstoffgehalt einer bestimmten Anzahl von Individuen miteinander zu vergleichen. Dies mag dann erlaubt sein, wenn mit einer so großen Anzahl von Eicheln gearbeitet wird, daß die Schwankungen in der Größe der einzelnen Eicheln nicht mehr in Betracht kommen, wenn z. B. der Gerbstoffgehalt von 100 oder mehr Individuen gleichzeitig bestimmt wird. Haben wir nämlich zwei verschieden große, frische Eicheln derselben Rasse vor uns, so können wir nicht annehmen, daß beide dieselbe absolute Gerbstoffmenge enthalten: die Gerbstoffmenge wird vielmehr der Größe und dem Gewicht der Eicheln entsprechen, der prozentuale Gerbstoffgehalt wird also ungefähr derselbe sein.

Infolge dieser Überlegung erschien es mir am besten, bei Beginn der Versuche das Frischgewicht jeder einzelnen Eichel zu bestimmen. (Bei einheitlichem Material kann diese Wägung für ganze Gruppen von Eicheln gemacht werden.) Der Gerbstoffgehalt wurde alsdann sowohl bei ungekeimten als auch bei gekeimten Eicheln auf dieses „Anfangsfrischgewicht“ berechnet, das eine für alle Eicheln, ob gekeimt oder ungekeimt, vergleichbare Größe darstellt[1]). Die Kenntnis des Anfangsfrisch-

1) Natürlich könnte auch eine Berechnung des Gerbstoffgehalts auf das „Anfangstrockengewicht“ vorgenommen werden. Da dieses Trockengewicht aber nicht direkt bestimmt, sondern nur berechnet werden kann, muß das Verhältnis des Trockengewichts

gewichts erlaubt uns, die Gerbstoffmenge zu berechnen, die eine Eichel zu Beginn des Versuchs enthalten haben muß. Bestimmen wir dann nach der Keimung z. B. den Gerbstoffgehalt der Kotyledonen allein und vergleichen die erhaltene Menge mit der nach dem Anfangsfrischgewicht berechneten, so können wir feststellen, ob die absolute Menge des Gerbstoffs in den Kotyledonen zu- oder abgenommen hat. Andererseits können wir auch die in Kotyledonen und Keimling gefundenen Mengen addieren und diese Gesamtmenge mit dem berechneten Anfangsgehalt vergleichen. Auf diese Weise läßt sich erstens feststellen, ob eine Abwanderung von Gerbstoff aus den Kotyledonen stattgefunden hat, oder ob in den Kotyledonen selbst neuer Gerbstoff entstanden ist, und zweitens, ob, wenn eine Abwanderung festgestellt werden konnte, der Gesamtgerbstoffgehalt von Kotyledonen und Keimling größer ist als der Anfangsgehalt der Eicheln. Der prozentuale Gerbstoffgehalt von Kotyledonen und Keimlingen, bezogen auf das Trockengewicht dieser einzelnen Teile, kann uns dagegen über solche Gehaltsverschiebungen keinen Aufschluß geben.

Bei der hier angewendeten Berechnungsweise muß natürlich angenommen werden, daß Samenschale und Samenhaut, die ja für die Gerbstoffbestimmungen nicht in Betracht kommen, immer ungefähr denselben Prozentsatz des Anfangsfrischgewichts ausmachen. Wegen des spärlichen Materials konnten hier keine einwandfreien Durchschnittswerte bestimmt werden. Jedenfalls sind aber die durch die geringen Unterschiede entstehenden Fehler nicht von großer Bedeutung.

Für die Anwendung des Anfangsfrischgewichts als Bezugsgröße gilt natürlich die Bedingung, daß die Samen vor der Wägung einige Zeit unter denselben Feuchtigkeitsverhältnissen belassen werden, damit sich die Unterschiede im Wassergehalt wieder ausgleichen können, die durch den Fundort der Samen bedingt sind (in Gras und Laub oder auf trockenem Weg).

### c) Besprechung der Resultate.

Es muß betont werden, daß die aus den wenigen vorliegenden Bestimmungen erhaltenen Resultate keineswegs als endgültig zu

zum Frischgewicht bei ungekeimten Eicheln zuerst an ausreichendem Material genau bestimmt werden. Das war für die vorliegenden Untersuchungen wegen Materialmangels nicht möglich.

betrachten sind und daß sie noch an einem größeren Material nachgeprüft werden müssen. Wegen der Schwierigkeiten, die bei der Ausarbeitung und Durchführung der Bestimmungen auftraten, mußten viele der ausgeführten Versuche infolge unvorhergesehener Fehlerquellen als ungültig betrachtet werden, so daß eben nur eine kleine Auswahl von Versuchen vorliegt, die aber mit der erreichbaren Genauigkeit ausgeführt wurden. Die bisherigen Resultate erlauben immerhin einige Schlüsse zu ziehen, die für die Ausführung weiterer Versuche von Bedeutung sein können.

Die bei den einzelnen Messungen erhaltenen Resultate sind in Tabelle 8 wiedergegeben. In Kolonne A sind die Werte für frische ungekeimte Eicheln verzeichnet. [Leider mußten gerade hier zwei Versuche wegen Versagens der Fällung (s. S. 294) ausgeschieden werden.] In den Kolonnen B, C und D sind die Werte für die unter verschiedenen Bedingungen gekeimten Eicheln angeführt. Die Werte wurden einerseits auf das Anfangsfrischgewicht der Eicheln (I der Kolonnen), andererseits auf das Trockengewicht der einzelnen Teile berechnet (II). Unter C und D wurde die Berechnung auf das Anfangsfrischgewicht aus leicht ersichtlichen Gründen nur für die Kotyledonen und für Kotyledonen + Keimling ausgeführt. In I. sind unten die Mittelwerte im mg pro 1 g Anfangsfrischgewicht und in Prozenten des für ungekeimte Eicheln gefundenen Gerbstoffgehalts angegeben. Die Berechnung von Mittelwerten mag hier etwas gewagt erscheinen; sie wurde nur ausgeführt, um den Vergleich der Resultate zu erleichtern. Ohne Zweifel darf hier den Unterschieden von 10%, wie sie z. B. zwischen den Werten der Kolonnen B und C 2 bestehen, noch keine große Bedeutung beigemessen werden. Wie schon gesagt, sollen aber diese Ergebnisse nur als Richtlinien für spätere Versuche dienen. Dieser Zweck rechtfertigt wohl auch den Versuch, sich auf Grund solcher wenigen vorliegenden Versuchsergebnisse eine vorläufige Vorstellung vom Verhalten der Gerbstoffe bei der Keimung zu bilden.

Für die vergleichende Betrachtung der Resultate kommen, wie gesagt, nur die auf das Anfangsfrischgewicht berechneten Werte in Betracht. Ein Vergleich dieser Werte mit denjenigen von II zeigt, daß bei Berechnung auf das Trockengewicht der Gerbstoffgehalt gekeimter Eicheln im Verhältnis zu dem ungekeimter Eicheln allgemein zu hoch erscheint, höher als bei Bezug auf das Anfangsfrischgewicht, so daß eine Zunahme zu stark, eine Abnahme da-

gegen zu schwach zum Ausdruck kommt. Dieser Unterschied ist, wie die unten angeführten Mittelwerte für die Trockengewichte zeigen, auf die Abnahme des Trockengewichts zurückzuführen.

Wenden wir uns nun der Betrachtung der Resultate zu. In II von Tabelle 8 lassen sich zwei Reihen von vergleichbaren Werten aufstellen; es sind dies einerseits die Werte unter A, B, C 2 und D 2, andererseits diejenigen unter A, C 1 und D 1. Bei der ersten Reihe handelt es sich um den Gesamtgerbstoffgehalt der einzelnen Individuen, bei der zweiten Reihe dagegen um den Gerbstoffgehalt der Kotyledonen allein.

## Tabelle 8.

Gerbstoffgehalt ungekeimter und gekeimter Eicheln von *Quercus ilex* var. *ballota*.

| A. | | B. | | C. | | | | D. | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nr. | ungekeimt | Nr. | gekeimt + Wurzeln | Nr. | Im Licht gekeimt | | | Nr. | Im Dunkeln gekeimt | | |
| | | | | | 1. Kotyl. | 2. Kotyl. + Keimling | 3. Keimling | | 1. Kotyl. | 2. Kotyl. + Keimling | 3. Keimling |
| **I. Gerbstoffgehalt in mg bezogen auf 1 g Anfangsfrischgewicht** | | | | | | | | | | | |
| 19 | 10,6 | 3 | (19,8) | 33 | 8,2 | 11,9 | — | 45 | 6,9 | 11,3 | — |
| 21 | 12,9 | 38 | 13,0 | 37 | 8,3 | 12,3 | — | 54 | 8,2 | 13,0 | — |
| 26 | (9,1) | 40 | 13,6 | 42 | 7,3 | 12,2 | — | 58 | 9,9 | 13,5 | — |
| | **11,75** | | **13,3** | | **7,9** | **12,1** | — | | **8,3** | **12,6** | — |
| | **100 %** | | **113 %** | | **67 %** | **103 %** | — | | **71 %** | **107 %** | — |
| **II. Gerbstoffgehalt in mg bezogen auf 1 g Trockengewicht** | | | | | | | | | | | |
| 19 | 21,8 | 3 | (38,0) | 33 | 20,3 | 25,9 | 66,4 | 45 | 16,5 | 23,7 | 73,8 |
| 21 | 23,3 | 38 | 27,9 | 37 | 20,9 | 27,7 | 86,8 | 54 | 19,9 | 27,8 | 87,9 |
| 26 | (18,9) | 40 | 28,7 | 42 | 19,7 | 27,7 | 70,1 | 58 | 22,2 | 28,2 | 78,9 |
| | **22,55** | | **28,3** | | **20,3** | **27,1** | **74,4** | | **19,5** | **26,57** | **80,2** |
| | **100 %** | | **125,5 %** | | **90 %** | **120 %** | | | **86,5 %** | **115 %** | |
| **Durchschnittliches Trockengewicht in Prozenten des Anfangsfrischgewichtes** | | | | | | | | | | | |
| | **50,66** | | **47,05** | | | **44,8** | | | | **47,5** | |

Wie die Tabelle zeigt, scheint der Gesamtgerbstoffgehalt während der Keimung etwas zuzunehmen. Setzen wir die bei ungekeimten Eicheln pro 1 g Anfangsfrischgewicht festgestellte

Gerbstoffmenge gleich 100%, so erhalten wir bei den gekeimten Eicheln 113, 103 und 107%. Dieses Resultat war nach den Untersuchungen Michel-Durands (1924, S. 588) zu erwarten. Eigentümlich ist aber, daß die Zunahme bei nicht assimilierenden, im Dunkeln gehaltenen Keimlingen größer zu sein scheint als bei im Licht gekeimten. Der Unterschied ist zwar gering (4 und 10%), so daß, wie schon gesagt, keine definitiven Schlüsse daraus gezogen werden können. Eine Tatsache kann aber eventuell mit dieser geringeren Zunahme des Gerbstoffs in Zusammenhang gebracht werden; das ist die stärkere Abnahme des Trockengewichts bei im Licht gekeimten Eicheln im Verhältnis zu den im Dunkeln gekeimten. Gehen wir nämlich von der im Anfang dieser Arbeit besprochenen Ansicht aus, daß der Gerbstoff aus den Reservestoffen gebildet und zu gleicher Zeit zum Aufbau anderer Substanzen oder besonders bei der Atmung verbraucht werde, so können wir uns denken, daß bei den belichteten Keimlingen, deren Stoffwechsel im allgemeinen viel intensiver zu sein scheint (stärkere Abnahme des Trockengewichts), der Verbrauch der Gerbstoffe auch rascher stattfindet. Sehr wahrscheinlich wird dann bei längerer Keimungsdauer die Zunahme der Gerbstoffe in den belichteten Keimlingen aber doch größer werden als in den verdunkelten, die ja mit der Zeit zugrunde gehen.

Es wäre wichtig, daß durch weitere Untersuchungen nachgeprüft würde, ob wenigstens im Anfang der Entwicklung der Eicheln unter dem Einfluß der Belichtung tatsächlich kein höherer Gerbstoffgehalt erzeugt wird als im Dunkeln. Wenn dies nämlich bisher immer festgestellt wurde, so kann daran, wie die entsprechenden Werte in II von Tabelle 7 (100%, 125,5%, **120**% u. **115**%) zeigen, die Berechnung auf das Trockengewicht schuld sein.

Vergleichen wir noch den absoluten Gerbstoffgehalt der Kotyledonen allein vor und nach der Keimung. Die Werte unter A, C 1 und D 1 zeigen eine ziemlich starke Abnahme; d. h. in den Kotyledonen der gekeimten Eicheln ist nur noch 67% resp. 71% der anfänglich vorhandenen Menge enthalten, ein Teil des Gerbstoffs ist also verschwunden. Diese Abnahme des Gerbstoffgehalts könnte auf einen Verbrauch an Ort und Stelle zurückgeführt werden. In diesem Falle müßte der Gerbstoff, der im Keimling nachgewiesen werden kann, im Keimling selbst gebildet worden sein. Man kann sich aber auch vorstellen, daß der Gerbstoff der Kotyledonen teilweise in den Keimling hinüberwandert. Da aber die Gesamtgerb-

stoffmenge bei der Keimung zunimmt, muß auch dann entweder in den Kotyledonen oder im Keimling neuer Gerbstoff gebildet werden.

In bezug auf einen Verbrauch der Gerbstoffe konnte also bei den vorliegenden Versuchen nichts Sicheres festgestellt werden. Es wurde weder ein Beweis noch ein Gegenbeweis für diese Ansicht erbracht. Immerhin besteht die Möglichkeit, durch eingehendere Untersuchungen, besonders mit Hilfe neuer Versuchsanordnungen, mehr Licht in diese Verhältnisse zu bringen. Vor allem bedarf das Verhalten der Gerbstoffe bei belichteten und verdunkelten Keimlingen noch einer gründlichen Nachprüfung. Vielleicht gelingt es auch, durch Kultur von Keimlingen ohne Kotyledonen die Frage zu entscheiden, ob im Keimling ein Verbrauch der Gerbstoffe stattfindet.

## Abschnitt IV.

## Zusammenfassung der Versuchsergebnisse.

In der vorliegenden Arbeit sollte versucht werden, das Verhalten der Gerbstoffe bei der Keimung von Eicheln zu untersuchen und einen eventuellen Verbrauch der Gerbstoffe bei der Keimung, wie er nach den Angaben von Brockmann-Jerosch stattfinden soll, quantitativ zu bestimmen.

Zu diesem Zwecke mußte zuerst eine geeignete Versuchsmethode ausgearbeitet werden. Im Laufe der Untersuchung wurde alsdann auch die Frage nach dem Zustande der Gerbstoffe in den Eicheln behandelt und durch verschiedene Modellversuche die eventuelle Bedeutung der Gerbstoffadsorbentien für die Pflanze nachgewiesen.

### 1. Methodisches.

Für die Extraktion der Gerbstoffe aus den Eicheln wurde eine Extraktionsmethode ausgearbeitet, die im Prinzip mit der von Willstätter und Stoll (1913) beschriebenen Extraktionsmethode für Chlorophyll übereinstimmt. Die Extraktionen werden auf Nutschen ausgeführt. Nach einer Vorextraktion mit wasserfreiem Äther, die den Zweck hat, die vorhandenen Harze zu entfernen, werden die Gerbstoffe mit 40proz. Aceton extrahiert. Mit dieser Methode wird aus Eicheln fast 1,5mal mehr Gerbstoff erhalten als bei Extraktion mit Wasser im Soxhletapparat bei 100° C. Dieser

Unterschied ist darauf zurückzuführen, daß bei 100° C ein großer Teil des Gerbstoffs schon im Pflanzenmaterial in eine unlösliche Form (Gerbstoffrot) übergeführt wird.

Die Extraktion auf der Nutsche mit 40proz. Aceton eignet sich nicht für alle gerbstoffführenden Pflanzenteile gleich gut. Aus Bananenschalen z. B. wird im Soxhlet-Apparat viel mehr Gerbstoff erhalten als nach der für die Eicheln ausgearbeiteten Methode. Es handelt sich also bei der Ausführung von Gerbstoffextraktionen immer zuerst darum, eine dem Objekt angepaßte Extraktionsmethode zu finden.

Fällung und Bestimmung der Gerbstoffe wurden nach der Methode von Malvezin (bei Koch 1922) ausgeführt. Auch diese Methode eignet sich nicht für alle Gerbstoffe gleich gut.

## 2. Zustand der Gerbstoffe in der Pflanzenzelle und die Möglichkeit einer Erklärung ihrer Unschädlichkeit.

Das eigentümliche Verhalten der Eichelgerbstoffe gegenüber den angewandten Lösungsmitteln (Unlöslichkeit in 100proz. Aceton, gute Löslichkeit in 40proz. Aceton, weniger gute Löslichkeit in Wasser) legte die Vermutung nahe, daß der Gerbstoff in den Eicheln nicht frei, sondern in einer Adsorptionsverbindung vorkomme. Da sich aber eine solche Adsorptionsverbindung mikroskopisch nicht nachweisen ließ, wurde die Extraktionskurve für ein Objekt bestimmt, bei dem dieser Nachweis leicht möglich war, nämlich für Bananenschalen. Die erhaltene Extraktionskurve stimmt in den wesentlichen Punkten mit derjenigen der Eicheln überein. Um einen eventuellen Einfluß des Trocknens (Adsorption der Gerbstoffe an Plasma und Zellwänden) auszuschalten, wurden auch an frischen Schnitten durch die Wurzeln junger Eichenkeimlinge Extraktionsversuche mit verschiedenen Lösungsmitteln ausgeführt. Es wurden dieselben Resultate erhalten wie in den vorhergehenden Versuchen. Die Wahrscheinlichkeit bestand also, daß in den Zellen der Eicheln und Eichelkeimlinge eine Adsorptionsverbindung der Gerbstoffe vorliege. Der Beweis hierfür wurde dadurch erbracht, daß auch für künstlich hergestellte Adsorptionsverbindungen des Tannins dieselben Löslichkeitsverhältnisse festgestellt wurden, wie sie in den Extraktionskurven der Eicheln und der Bananen zum Ausdruck kommen (s. S. 300 und 304 ff.).

Nach der Ansicht Lloyds könnte den Gerbstoffadsorbentien in den Pflanzen die Aufgabe zukommen, das Protoplasma vor der Fällung durch den Gerbstoff zu schützen. Durch Mischung einer gummihaltigen Tanninlösung und einer Albuminlösung wurde nachgewiesen, daß die Fällung von Eiweiß mit Gerbstoff durch die Anwesenheit eines kolloiden Kohlehydrats nicht gehemmt wird. Dagegen gelang es, die Wirkung einer Tanninlösung auf Hefe durch Zusatz einer bestimmten Menge Gummi arabicum vollständig aufzuheben. Der Gummi scheint in der Tanninlösung eine Zunahme der Teilchengröße zu bewirken, so daß ein Eindringen des Tannins durch die Plasmagrenzschicht unmöglich gemacht wird.

## 3. Verhalten der Gerbstoffe bei der Keimung von *Quercus ballota*.

Geschmacksproben an keimenden Eicheln von *Quercus ballota* haben gezeigt, daß der Geschmack der Eicheln beim Quellen und Keimen bitterer wird. Dieses Bitterwerden braucht nicht auf einer Zunahme der Gerbstoffe zu beruhen; es wird wahrscheinlich durch eine Verschiebung des Adsorptionsgleichgewichts hervorgerufen und verschwindet wieder beim Eintrocknen. Die Feststellungen über ein Süßerwerden der Eicheln durch das Keimen, von welchen Brockmann-Jerosch spricht, müssen sich darum allem Anschein nach auf schon zubereitete, d. h. erhitzte Eicheln beziehen. Es ist nämlich denkbar, daß bei der Keimung die Hitzeempfindlichkeit der Gerbstoffe gesteigert und dadurch ihre Zerstörung beim Braten und Kochen erleichtert würde. Nähere Untersuchungen in dieser Beziehung liegen nicht vor.

Als Bezugsgröße für die bei den quantitativen Bestimmungen erhaltenen Werte wurde das Anfangsfrischgewicht gewählt, das eine für alle Eicheln bestimmbare und vergleichbare Größe darstellt. Die Beziehung der Werte auf das Anfangsfrischgewicht ermöglicht es, Verschiebungen im Gerbstoffgehalt zwischen Kotyledonen und Keimling richtig zu bewerten.

Die Bestimmungen haben ergeben, daß die Gesamtgerbstoffmenge von Keimling + Kotyledonen während der Keimung etwas zuzunehmen scheint. Der absolute Gehalt der Kotyledonen dagegen nimmt um etwa 30 % ab. Allem Anschein nach handelt es sich hier um eine Abwanderung der Gerbstoffe aus den Kotyledonen in den Keimling, wie das bei den Reservestoffen der Fall

ist. Ob wir es beim Gerbstoff tatsächlich auch mit einem Reservestoff zu tun haben, steht noch nicht fest.

Die vorliegende Arbeit wurde in dem botanischen und dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Basel vom Winter-Semester 1926/27 bis zum Sommer-Semester 1928 ausgeführt.

Ich möchte Herrn Prof. G. Senn für die Anregung zu dieser Arbeit, und ihm sowie Herrn Prof. K. Spiro für die Überlassung der notwendigen Hilfsmittel und das stete Interesse, das sie meiner Arbeit entgegengebracht haben, meinen besten Dank aussprechen. Ebenfalls zu Dank verpflichtet bin ich den Herren Prof. Dr. Killian, Algier, und Prof. Dr. Ruy Palhinha, Direktor des botanischen Gartens in Lissabon, für die bereitwillige Übersendung von Material.

## Literaturverzeichnis.

1896. Bastin, E. and Trimble, H., A contribution to the knowledge of some North American Coniferae. Amer. Journ. Pharm., **68**.

1898—1904. Berthold, G., Untersuchungen zur Physiologie der pflanzlichen Organisation. Leipzig, Engelmann.

1925. Brockmann-Jerosch, H., Die Kulturpflanzen, ein Kulturelement der Menschheit. Festschr. Carl Schröter. Veröffentl. des Geobot. Inst. Rübel, Zürich, Heft 3, S. 793.

1889. Büsgen, M., Beobachtungen über das Verhalten des Gerbstoffs. Jena 1889.

1880. Charbonel-Salle, Recherches sur le rôle physiologique des tannins. Thèse, Paris.

1921. Czapek, Fr., Biochemie der Pflanzen. Fischer, Jena.

1890. Daniel, L., Le tannin dans les composées. Rev. gén. Bot., **2**, S. 391.

1913. Dekker, J., Die Gerbstoffe. Borntraeger, Berlin.

1875. Dulk, L., Gerbstoff der Birke und Buche. Landw. Versuchsstat., **18**, S. 192.

1903. Ellrodt, G., Über die Verteilung des Gerbstoffs. Inaug.-Diss. Würzburg 1903.

1920. Freudenberg, K., Die Chemie der natürlichen Gerbstoffe. Springer, Berlin.

1922. — — und Vollbrecht, E., Der Gerbstoff der einheimischen Eichen. Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **55**.

1927. Fuchs, W., Theorie der Ligninbildung. Biochem. Zeitschr., **108**.

1903. Goris, Sur la localisation du tannin et de l'aesculine dans *Aesculus Hippocastanum*. Compt. rend. Acad. Sc. Paris, **136**, S. 902.

1919. Hansteen-Cranner, Beiträge zur Biochemie und Physiologie der Zellwände und der plasmatischen Grenzschichten. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., **37**, S. 380.

1888. Henry, E., Repartition du tannin dans les diverses régions du bois de chêne. Lyon 1888.

1888. Klerker, J. F. af, Studien über die Gerbstoffvakuolen. Diss. Tübingen.
1922. Koch, A., Mikrobiologisches Praktikum. Springer, Berlin.
1889. Kraus, G., Grundlinien zu einer Physiologie des Gerbstoffs. Leipzig.
1883. Kutscher, Über die Verwendung der Gerbsäure im Stoffwechsel der Pflanzen. Flora, **66**, S. 33.
1910. Lloyd, F. E., Development and nutrition of the embryo, seed and carpel in the date, *Phoenix dactylifera* L. Missouri Bot. Gard., 21. ann. Rep.
1912. — —, The association of tannin with an emulsion colloid in the acorn (*Quercus laurifolia* Mich.). Johns Hopkins Univ. Circ. Feb. 1912.
1922. — —, The occurrence and functions of tannin in the living cell. Proc. and Transact. Royal Soc. Canada. Third series, vol. XVI, May 1922, S. 1—13.
1922. — —, The mode of occurrence of tannin in the living cell. Journ. Amer. leather Chem. Assoc. Sept. 1922.
1926. Lüers, H., Die Bestimmung präexistierender Substanzgruppen in Pflanzen. Abderhalden, Handb. biol. Arbeitsmeth., Abt. XI, Teil 3, Heft 4, S. 633.
1926. Luft, G., Die Verteilung der Saponine und Gerbstoffe in der Pflanze. Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., Abt. I, **135**, S. 259—284.
1928. Lutz, L., Sur le rôle biologique du tannin dans la cellule végétale. Bull. Soc. Bot. de France, 5me série, Tome IV, S. 9.
1904. Manea, A., Sur les acides gallotannique et digallique. Thèse, Genève 1904.
1924. Michel-Durand, De l'état des Tannins dans la cellule végétale. Compt. rend. Acad. Sc. Paris, **178**, S. 586—589.
1925. — —, Sous quelle forme existent les tannins chez les *Spirogyres*. Ebenda, **180**, S. 1171—1173.
1925. — —, Influence de la lumière sur la formation des tannins. Ebenda, **181**, S. 937—939.
1926. — —, Sur les solvants des tannins. Ebenda, **182**, S. 460—462.
1928. — —, Sur le rôle physiologique des tannins pyrogalliques. Ebenda, **186**, S. 514—517.
1888. Möller, H., Anatomische Untersuchungen über das Vorkommen von Gerbsäure. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., **6**, S. 64.
1898. Müller, Über die Extraktion der Gerbmaterialien für die Analyse. Der Gerber, **191**. (Zit. nach Dekker.)
1891. Nickel, E., Zur Physiologie der Gerbstoffe und der Trioxybenzole. Bot. Centralbl., **45**, S. 394—397.
1909. Ostwald, Wo., Grundriß der Kolloidchemie. Steinkopf, Dresden.
1834. Pelouze, Extraktion des Gerbstoffs aus Galläpfeln mit alkoholhaltigem Äther. Liebigs Ann. d. Chem., **10**, S. 145.
1924. Picard, F., Observations sur la solubilité des tannins et leur extraction chez les végétaux. Compt. rend. Acad. Sc. Paris, **179**, S. 480.
1884. Riegel, M., Verhalten der Gerbstoffe beim Kochen. Der Gerber, **102**. (Zit. nach Dekker.)
1914. Rosenthaler, L., Der Nachweis organischer Verbindungen. Enke, Stuttgart.
1859. Sachs, J., Ueber einige neue mikroskopisch-chemische Reaktionsmethoden. II. Ueber mikroskopische Nachweisung von Gerbstoff in den Zellen. Wien. Acad.-Ber., **36**, S. 23.
1865. — —, Ueber die Bildung von Stärke aus Tannin. Handb. d. Experimentalphysiologie, Leipzig, S. 316.

1875. Schell, Physiologische Rolle der Gerbsäure. Justs Bot. Jahresber., S. 872.
1871. Schroeder, J. v., Ueber den Gerbstoff der Birke und Buche. Landw. Versuchsstat., **14**, S. 118.
1917. Sperlich, A., I. Jod ein brauchbares mikrochemisches Reagens für Gerbstoffe. Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. Wien, Abt. I, **126**, S. 103.
1910. Trunkel, H., Über Leim und Tannin. Biochem. Zeitschr., **26**, S. 458.
1904. Weevers, Th., Die physiologische Bedeutung einiger Glucoside. Jahrb. f. wiss. Bot., **39**, S. 229.
1885. Westermaier, Zur physiologischen Bedeutung der Gerbstoffe in den Pflanzen. Sitzungsber. d. Berliner Akad., **II**, S. 1115.
1865. Wiesner, J., Über die Entstehung des Harzes im Inneren der Pflänzenzellen. Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl., **52**, II, S. 118.
1913. Willstätter und Stoll, Untersuchungen über Chlorophyll. Springer, Berlin.
1924. Willstätter, R., Die Blattfarbstoffe. Abderhalden, Handb. Biol. Arbeitsmethoden, Abt. I, Teil 11, Heft 1, S. 1—70.
1915. Wisselingh, C. van, Über den Nachweis des Gerbstoffs in der Pflanze und über seine physiologische Bedeutung. Beihefte z. Bot. Centralbl., **32**, I.

## Nachtrag:

Während der Drucklegung vorliegender Arbeit erschien in der Revue gén. de botanique, **40**, S. 705 der Anfang einer zusammenhängenden Arbeit von

Michel-Durand: Recherches physiologiques sur les composés tanniques, die aber hier nicht mehr berücksichtigt werden konnte.

# Curriculum vitae

Ich, Hanna Huber, wurde am 12. August 1903 in Pará (Brasilien) geboren. Meine Eltern sind Dr. Jakob Huber, Botaniker, Direktor des Museum Goeldi in Pará (gest. 1914), von Basel und Schaffhausen, und Sophia Huber, geb. Müller in Basel.

Von 1914—1919 besuchte ich die Freie Schule in Basel, von 1920—1923 die hiesige Töchterschule, an welcher ich im Frühling 1923 die Maturitätsprüfung ablegte.

Meine Studien absolvierte ich an der Universität Basel vom Frühling 1923 bis Sommer 1928. Ich nahm teil an den Vorlesungen und Praktika der folgenden Herren Professoren und Dozenten: Faust†, Fichter, Hagenbach, Handschin, Menzel, Portmann, Rupe, Saunders (Cambridge), Schüepp, Senn, Speiser, Spiro, Vischer, Weiß (Manchester), Witschi, Zschokke.

Von Frühling 1925 bis Frühling 1926 hatte ich die Stelle einer zweiten Assistentin an der zoologischen Anstalt der Universität Basel inne.

Meine Dissertation verfaßte ich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. G. Senn.

Allen meinen verehrten Lehrern spreche ich an dieser Stelle meinen besten Dank aus für die Förderung, die sie meinen Studien haben angedeihen lassen.